

Über Pilzvergiftungen und deren Nachweis

Verfahren zur Anreicherung von Pilzsporen

1968

von

Irmgard Wiesmeier

aus

Eichstätt/Bay.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Über Pilzvergiftungen und deren Nachweis

Verfahren zur Anreicherung von Pilzsporen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Irmgard Wiesmeier

aus

Eichstätt/Bay.

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. A. Kröncke

Referent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 17. 12. 1968

Über Pilzvergiftungen und deren Nachweis.
Verfahren zur Anreicherung von Pilzsporen.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A. <u>Einleitung und Problemstellung</u>	9
B. <u>Allgemeiner Teil</u>	10
I. <u>Definition der Pilze</u>	10
II. <u>Bedeutung der Pilze</u>	11
1. Bedeutung der Pilze als Nahrungs- und Genußmittel	11
2. Bedeutung der Pilze als Heilmittel	14
3. Bedeutung der Pilze als Rauschmittel	17
4. Bedeutung der <u>giftigen Pilze</u>	20
a) Definition der Begriffe Giftpilz und Pilzvergiftung	20
b) Unterscheidung von giftigen und eßbaren Pilzen	22
c) Häufigkeit der Vergiftungsfälle	23
d) Forensische Bedeutung der Pilzvergiftungen	26
aa) Giftmorde durch Pilze	26
bb) Selbstmorde durch Pilze	27
cc) Fahrlässige Körperverletzung durch Pilze	28
III. <u>Einteilung der Giftpilze auf Grund ihrer Wirkung auf den menschlichen Organismus</u>	29
1. Giftpilze mit überwiegender Wirkung auf den Gastrointestinaltrakt	30
2. Giftpilze mit überwiegender Wirkung auf das Zentralnervensystem	33
a) Pilze, die ein Muscarinsyndrom hervorrufen	33
b) Pilze, die ein Pantherinasyndrom hervorrufen	36

3. Giftpilze mit überwiegender Wirkung auf die parenchymatösen Organe	40
a) Knollenblätterpilze	40
b) Lorchel	54
c) Orangefuchsigiger Hautkopf	56
d) Fleischroter Schirmling	58
e) Grünblättriger Schwefelkopf	59
4. Bedingt giftige Pilze	60
a) Kahler Krempling	60
b) Gelber Knollenblätterpilz	61
c) Faltentintling	62
d) Nebelgrauer Trichterling und Hallimasch	63
IV. <u>Giftstoffe der Pilze</u>	64
1. Muscarin	64
a) Entdeckung und Vorkommen	64
b) Isolierung	65
c) Chemie	66
2. Amanita-Toxine	67
a) Entdeckung und Vorkommen	67
b) Isolierung	68
c) Chemie	69
3. Helvellasäure	72
a) Entdeckung und Vorkommen	72
b) Isolierung	73
c) Chemie	73
4. unbekannte Gifte	74
a) in der Lorchel	74
b) im Fliegen- und Pantherpilz	74
V. <u>Verfahren zum Nachweis von giftigen Pilzen</u>	75
1. Chemisch-toxikologische Nachweisverfahren	75
a) für die Amanita-Toxine	75
b) für Muscarin	80
c) für aldehydartige Substanzen in Lorcheln	82
d) Spektralphotometrische Untersuchungen von Pilzextrakten	84

	Seite
2. Physiologische Nachweisverfahren	85
a) für die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes	85
b) für Muscarin	86
3. Serologisches Nachweisverfahren	87
a) Hämolsine	87
b) Hämagglutinine	88
c) Methode zur Unterscheidung eßbarer und giftiger Pilze auf Grund ihrer hämolytischen und hämagglutinierenden Eigenschaften	89
4. Botanischer Nachweis	92
a) makroskopische Untersuchung	92
b) mikroskopische Untersuchung	92
aa) Erkennung aus dem spezifischen Pilzgewebe	93
bb) Erkennung aus der Anordnung des Fruchtlagers	93
cc) Erkennung aus den Sporen	94
Art der Sporenbildung	94
Charakteristische Merkmale der Sporen	95
VI. <u>Forensisch-toxikologische Bedeutung der bekannten Nachweisverfahren zur Aufklärung von Pilzvergiftungen</u>	98
1. Bedeutung der chemisch-toxikologischen und physiologischen Nachweisverfahren	98
a) zur Aufklärung einer Knollenblätterpilzvergiftung	98
b) zur Aufklärung einer Muscarinvergiftung	102
c) zur Aufklärung einer Lorchelvergiftung	102
2. Bedeutung des serologischen Nachweises	103
3. Bedeutung des botanischen Nachweises	104

C. <u>Experimenteller Teil</u>	107
I. <u>Auffindung eines geeigneten Anreicherungsverfahrens</u>	107
Prinzip der Methode	107
1. Anreicherung der Pilzsporen	108
a) Ausgangsmaterial	108
b) Anreicherung im Bodensatz	108
c) Anreicherung an der Oberfläche	109
d) Suche nach einem geeigneten Lösungsmittel für die Anreicherung an der Oberfläche	111
2. Beschleunigung der Anreicherung	112
a) Beschleunigung der Anreicherung durch Ver- dünnung des Lösungsmittels	112
b) Beschleunigung der Anreicherung durch Zen- trifugieren	113
3. Nachweis der Pilzsporen nach Anreicherung	114
a) mikroskopische Betrachtung der Pilzsporen	114
b) Anfärbung der Pilzsporen	114
aa) Fixierung der Pilzsporen	115
bb) Färbung nach ZIEHL-NEELSEN	116
II. <u>Prüfung des Anreicherungsverfahrens</u>	117
1. Prüfung des Anreicherungsverfahrens am homoge- nisierten Pilzmaterial	117
a) Nachweis der Anreicherung durch Vergleich der Sporenzahl	117
b) Nachweis der Anreicherung durch Verdünnungen und Entfernung der Sporen durch Zentrifugieren	118
c) Ergebnisse	119
2. Prüfung des Anreicherungsverfahrens am Pilzgericht	119
a) Zubereitung des Pilzmischgerichtes	119
b) Untersuchung des Pilzmischgerichtes	120
c) Ergebnisse	120
d) Arbeitsvorschrift	121

3. Prüfung des Anreicherungsverfahrens	
am Stuhl	122
a) Modifiziertes Verfahren zur Anreicherung	
der Pilzsporen aus Stuhl	122
b) durchgeführte Versuche	124
c) Ergebnisse	124
d) Arbeitsvorschrift	127

III. Anwendung des Anreicherungsverfahrens zum Nachweis von Pilzsporen bei Vergiftungsfällen 128

1. Tödliche Vergiftung durch Knollenblätterpilze (<i>Amanita phalloides</i> sive <i>virosa</i>)	128
a) Vorgeschichte	128
b) Eigene Untersuchungen	130
aa) Untersuchung des Mageninhaltes	130
bb) Untersuchung des Dünn- und Dickdarminhaltes	130
c) Beurteilung	131
2. Massenvergiftung durch den gelben Knollenblätterpilz (<i>Amanita mappa</i> Batsch).	132
a) Vorgeschichte	132
b) Eigene Untersuchungen	133
aa) Untersuchung des Pilzgerichtes	133
bb) Untersuchung der Stuhlproben	133
c) Beurteilung	134
3. Vergiftung durch Knollenblätterpilze (<i>Amanita phalloides</i> sive <i>virosa</i>)	135
a) Vorgeschichte	136
b) Eigene Untersuchungen	136
aa) Untersuchung des Pilzgerichtes	136
bb) Untersuchung der Magenspülflüssigkeit	137
cc) Untersuchung der Stuhlprobe	137
c) Beurteilung	137
d) weiterer Verlauf	137

	Seite
<u>Bildanhang</u>	140
<u>D. Diskussion und Zusammenfassung</u>	147
<u>E. Literaturverzeichnis</u>	151

Über Pilzvergiftungen und deren Nachweis.

Verfahren zur Anreicherung von Pilzsporen.

A. Einleitung und Problemstellung.

Im allgemeinen Teil der vorliegenden Arbeit wird zunächst ein historischer Überblick über die Bedeutung der Pilze und der Pilzvergiftungen gebracht. Dann werden die einzelnen Giftpilze und die durch sie hervorgerufenen Vergiftungsbilder behandelt, wobei auf den klinischen Verlauf, die pathologisch-anatomischen Befunde und Therapie sowie auf die in ihrer chemischen Struktur aufgeklärten Toxine der Pilze eingegangen wird. Anschließend werden die bekannten Verfahren zum Nachweis giftiger Pilze beschrieben. Die Bedeutung der Methoden zur Aufklärung von Intoxikationen wird kritisch besprochen.

Im experimentellen Teil war die Aufgabe zu lösen, den botanischen Nachweis einer Pilzvergiftung mit Hilfe der Sporenanalyse aus Pilzgerichten, Mageninhalt und Stuhl schnell und sicher zu führen. Hierzu waren bisher zeitraubende Untersuchungen zahlreicher Objektträgersausstriche nötig, die nur vereinzelt Pilzsporen enthielten, die zudem wegen der störenden Begleitmaterialien schlecht zu erkennen waren. Deshalb wurde ein geeignetes mikroskopisches Verfahren angestrebt, das es gestattet, in wenigen Präparaten eine intensive, saubere und schnelle Anreicherung und einen Querschnitt aller in den Ausgangsmaterialien befindlichen Pilzsporen zu erzielen. Außerdem beabsichtigen wir, durch unsere Versuche Kenntnisse über die Widerstandsfähigkeit der Pilzsporen, insbesondere über etwaige Veränderungen derselben durch die Zubereitung oder die Einflüsse der menschlichen Verdauung zu erhalten.

B. Allgemeiner Teil

I. Definition der Pilze

Als Pilze, Fungi oder Myceten werden im botanischen Sinne (LINDAU, GÄUMANN 1964) die chlorophyllfreien Thallophyten bezeichnet, jedoch unter Ausschuß der Bakterien (Spalt"pilze") und Myxomyceten (Schleim"pilze"), mit denen sie manche biologischen Merkmale teilen (Fehlen des Chlorophylls, parasitische oder saprophytische Lebensweise), von denen sie sich jedoch durch den Besitz von echten Zellkernen und zellulösen oder chitinösen Zellwänden unterscheiden. Stammesgeschichtlich teilt man nach dem Bau ihrer Vegetationskörper von den echten Pilzen (Vegetationskörper besteht aus einem Mycel) noch die Gruppe der Urpilze = Archimyceten (nackter Vegetationskörper), die aber in den botanischen Lehrbüchern aus praktischen Gründen mit den echten Pilzen immer zusammen besprochen werden.

Nach ihrem Entwicklungsgang und nach der Art ihrer geschlechtlichen Fortpflanzung gliedern sich die echten Pilze in folgende drei Entwicklungsstufen (Klassen):

1. die Phycomyceten = Algenpilze
2. die Ascomyceten = Schlauchpilze
3. die Basidiomyceten = Ständerpilze

Bei Klasse 1 handelt es sich meist um mikroskopisch kleine Pilze, die uns hier nicht weiter interessieren. Die Asco- und Basidiomyceten bilden ihre Verbreitungsmittel, die Sporen, entweder endogen oder exogen meist in besonderen Fruchtkörpern. (Nähere Einzelheiten bezüglich der Morphologie siehe S. 92-95).

Diese Fruchtkörper, die sehr mannigfach gestaltet sind, und von denen es eine Unzahl gibt, werden gemeinhin als Pilze oder Schwämme bezeichnet.

II. Bedeutung der Pilze

1. Bedeutung der Pilze als Nahrungs- und Genußmittel

Die Pilze werden im Volke seit Jahrtausenden wegen ihres hohen Gehaltes an wertvollen Geschmacksträgern als beliebtes Nahrungs- und Genußmittel verwendet.

Bereits die Babylonier und Römer schätzten die Pilze als Delikatesse. MARTIAL nennt sie in seinen Epigrammen rund ein Dutzend Mal zusammen mit den beliebtesten Leckerbissen und erklärt:

"Argentum atque aurum facile est laenamque togamque
Mittere; boletos mittere difficile est" (XIII,48).

Sie wurden in eigens dazu bestimmtem Geschirr "Boletaria" (MARTIAL XIV, 101) zubereitet und serviert und mit Messern aus Bernstein oder Silber behandelt: "...et cogitante ante pascuntur sucinis novaculis aut argenteo apparatu comitante" (PLINIUS XXII, 47). Die Römer beschränkten sich bei der kaum entwickelten botanischen Systematik vor allem auf drei Sorten: die edlen "Boleti" (unsere Kaiserlinge oder Champignons), die "Tubera" (Trüffel), die an zweiter Stelle folgten (PLINIUS XII, 50) und die für das gemeine Volk bzw. "wenig geschätzte Gäste" bestimmten "Fungi suilli" (Saupilze) (MARTIAL III,60).

Im Mittelalter mußten die sogenannten "Herrenpilze" als regelmässige Abgabe den Fürsten und adeligen Herren abgeliefert werden (ZEITLMAYR).

J.V.KROMBHOLZ, welcher 1831 das erste ausführliche deutsche Pilzwerk mit "naturgetreuen Abbildungen und Beschreibungen der eßbaren, schädlichen und verdächtigen Schwämme" herausbrachte, berichtet von weiten Bevölkerungskreisen, "welche während mehrerer Monate des Jahres eine unglaubliche Menge

von Schwämmen verzehren", die ihnen dann als Fleischersatz, ja oft als einziges Nahrungsmittel dienen, und nennt die Pilze Pflanzen, die in Mißjahren "Menschen und Haustiere gegen Hunger und Krankheiten schützen helfen".

Auch in unserem Jahrhundert strömten die Menschen in den Kriegs- und Nachkriegsjahren in Scharen in die Wälder, um ihre kargen Mahlzeiten zu bereichern.

Nach SCHORMÜLLER wurden in Deutschland in letzter Zeit jährlich rund 8 000 t Pilze im Werte von 25 Millionen DM erfaßt und verwertet.

Bestandteile und Nutzwert der Pilze

Die Pilze enthalten etwa 90% Wasser. Ihre übrigen chemischen Bestandteile sind nachstehend (nach SCHORMÜLLER) zusammengestellt:

Stickstoffsubstanzen: 3 - 5%, davon

Eiweiß 65%

der Rest von 35% zerfällt in:

freie Aminosäuren,

Amide,

Harnstoff,

Chitin (vertritt bei den Pilzen die Zellulose),

Ergothionein,

biogene Amine (LIST' 1958),

Betaine, und

Purinderivate,

Bufotenin aus gelbem Knollenblätterpilz (Th.WIELAND et al.1953).

Fett: 0,3%, davon

0,8 - 7% Lipide:

Lecithin,

Ergosterin.

Kohlehydrate: 4 - 6%

Mannit,

Trehalose und

zahlreiche weitere Zuckerarten.

Mineralien: 3,5 - 12,9% der Trockensubstanz, bes.

Fluor,

Eisen und

Mangan (BERTRAND und SILBERSTEIN).

Vitamine: im allgemeinen vitaminarm, jedoch reich an

Vit.D (5 - 200IE/100g), z.T.

Vit.A (Pfifferlinge) u.

Vit.B₁, B₂ (BÖTTICHER 1950).

Enzyme:

Hydrolasen:

Trehalase,

Urease und

Oxydoreduktasen:

Mannitdehydrogenase (EDMUNDOWICZ et al.)

Phenolase (SMITH und KRUEGER, LISSITZKY und ROLLAND, BOUCHILLOUX et al. OSAKI). Sie bewirkt das Nachdunkeln der Schnittflächen von Pflanzenteilen (KARLSON) und ist für das schnelle Verfärben der Pilze bei der Zubereitung, beim Trocknen und Eindosen verantwortlich.

Farbstoffe: vor allem

Chinone bei den Boleti und

Muscarufin (KÖGL und ERXLEBEN 1930) bei Amanita muscaria.

Die Pilze entsprechen in ihrem Nutzwert unseren gebräuchlichen Gemüsesorten (nach BÖTTICHER 1950 17-44cal/100g). Ihr zwar hoher Gehalt an Stickstoffsubstanzen ist an essentiellen Aminosäuren nicht ausgeglichen. Sie sind als ernährungsphysiologisch

mäßig bis gering zu beurteilen. Eine übertriebene Pilzbewertung ("Fleisch des Waldes") ist nicht vertretbar. (SCHORMÜLLER)

2. Bedeutung der Pilze als Heilmittel

Im Gegensatz zu anderen Wildpflanzen ist man bei der Verwendung von Pilzen in der Heilkunde immer ziemlich zurückhaltend gewesen. Schon die absonderlichen Vorstellungen, die über ihre Entstehung herrschten - "die erste Ursache ihrer Bildung liegt im Schlamm und der scharfen Feuchtigkeit der Erde" (PLINIUS XXII, 46)... "entstehen aus dem gärenden Schleim der Bäume" (XXII, 47)- ließen sie als Heilmittel (Remedia) wenig geeignet erscheinen. Zudem boten sie der Signaturenlehre auf Grund ihres meist unscheinbaren Äußeren kaum auffällige Anhaltspunkte und konnten vor allem immer Anlaß zu gefährlichen Verwechslungen bieten. So nennt PLINIUS, der in seiner Naturalis Historia auch ausführlich die "Arzneimittel von den Pflanzen" (XX-XXVII) beschreibt, wohl mehr als zwanzig Mittel gegen giftige Pilze (Remedia adversus haec)- u.a. den gerösteten Samen des Kohls (Brassica), Lilienwurzeln (Radices lilii), Schnittlauch (Porus), die Stiele und das Fleisch von Birnen, mitgekocht oder gleich danach genossen, während er den Heilkräften der Pilze nur kurz einräumt: "interim sunt aliqua (remedia) et in iis" (XXII, 47). Er glaubt, sie seien gut für den Magen, zur Blutstillung, zum Waschen der Augen, als Auflage bei eiternden Geschwüren, Ausbrüchen des Kopfes und Hundebissen, und nützlich gegen Rheuma, Haemorrhoiden, Sommersprossen und andere "mulierum in facie vitia".

Die z.T. grotesken Vorstellungen über Indikation und Zubereitung der Pilze bei ihrer Verwendung als Heilmittel blieben fast unverändert bis zum Ende des 19. bzw. Beginn des 20. Jahrhunderts. Sie stellten ein Gemisch aus empirisch gewonnenen Kenntnissen ihrer Wirksamkeit und vor allem Aberglauben dar. (Nähere Einzelheiten siehe H.u.E. de CLUVELAND). Als Beispiel daraus sei hier nur der in seinem Verbreitungsgebiet zweifellos

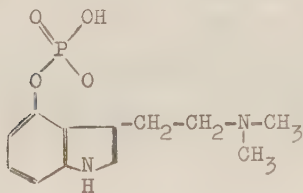
populärste unter den früher gebräuchlichen Pilzen, der schweiß-hemmende (bei Tuberculose) und als bewährtes Abführmittel bekannte Lärchenporling (*Fomes officinalis*) genannt, der Bestandteil der "Augsburger Lebensessenz" war: "...fürs krimmen in leib... für groß hauptwe...wider die fistel...wider die feigblatern... gepulvert, als clistier und pillulen, in wein, mit honig gemengt: nim Agaricum! es heylet!" Oder der Weidenschwamm (*Trametes suaveolens*), der als Mittel bei Schwindsucht, "selbst bei vollkommen ausgebildeter und bejammernswerter" gepriesen wurde.

In der Volksmedizin (GEBNER) und zur Bereitung von homöopathischen Präparaten (SCHURZ (2)) wird heute höchstens noch der Fliegenpilz (*Amanita musc.*) verwandt, der als Diureticum (KROMBHOLZ) und Mittel gegen Epilepsie, Gefäßkrämpfe, multiple Sklerose etc. dient.

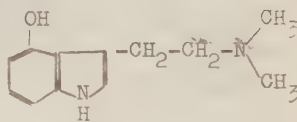
Erst in neuerer Zeit wurden durch die Darstellung vieler Inhaltsstoffe der Pilze und die Durchleuchtung ihrer interessanten Lebensvorgänge die alten Auffassungen über die therapeutische Wirksamkeit gründlich revidiert. Nachdem mit dem Aufschwung der Chemotherapie die Phytotherapie stark zurückgedrängt worden war, sind die Pilze jetzt wieder in steigendem Maße in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. So weist BIRKFIELD auf die in vielen Pilzen (z.B. Gallenröhrling, Grünblättriger Schwefelkopf) enthaltenen Gerb- und Bitterstoffe hin. Der Brkenpilz (*Tubiporus scaber*) soll nach Untersuchungen des Institutes für Heilmittel in Warschau Eigenschaften zur Hebung des Allgemeinzustandes bei Neoplasmen besitzen. Zudem wurden in letzter Zeit in verschiedenen Pilzen (LUCAS et al.) das Tumorstadium hemmende Stoffe vermutet und auch isoliert und getestet, z.B. Calvacin (ROLAND et al. 1960) oder das von NAKAI 1958 in *Lampteromyces* gefundene und von NAKANISHI et al. 1963 auf Toxizität und Antitumoraktivität geprüfte "LAMPTEROL".

Während die von Mikropilzen produzierten Antibiotica in den vergangenen 25 Jahren einen ungeheuren Umschwung in der medizinischen Therapie hervorgerufen haben, wurden nun auch in Makropilzen antibiotisch wirksame Stoffe gefunden (OLUVELAND H. u. E.; FRAGNER).

In den letzten Jahren isolierten A.HOFMANN et al. aus den Gattungen Psilocybe und Panaeolus die beiden Tryptamin-Derivate Psilocybin und Psilocin und klärten ihre Struktur auf:



Psilocybin



Psilocin

Die psychotropen Wirkungen dieser Substanzen sind bei manchen Völkern seit langem bekannt.

J. DELAY et al. (zit. bei R.HEIM 1965) erprobten diese Wirkstoffe in Selbstversuchen und bei einem Dutzend gesunden Personen, wobei sich deutliche Effekte folgender Art zeigten: somatische Wirkungen, wie Mydriasis, Bradycardie, Hypotonie und allgemeiner Tonusverlust, Schwäche, Schläfrigkeit, Blutandrang zum Gesicht, Kälte- und Hitzegefühl, Schweißausbrüche, schwankender Gang, Schwindel, Kopfschmerzen, Veränderungen der Hautsensibilität, Absinken des Zucker- und Kaliumspiegels im Blut und psychische Wirkungen, wie Störungen des Zeit- und Raumempfindens mit Illusionen und Halluzinationen optischer, akustischer und haptischer Art, selten Dysphorie mit Ratlosigkeit, Angst, Erregung, meist aber euphorische Veränderungen der Stimmungslage mit Lustigkeit, Vielgesprächigkeit, Vertraulichkeit,

unmotiviertem Lachen, Glücksgefühl und Selbstzufriedenheit, Zeichen einer Depersonalisation, Schwierigkeiten der Ausdrucksfähigkeit bis zum Mutismus, Kritiklosigkeit und Perseveration. J.DELAY beobachtete eine "libération d'une mémoire dessocialisée", längst vergessene Erinnerungen meist aus der Kindheit tauchten wieder auf.

An Geisteskranken wurden in gleicher Weise Versuche angestellt. Diese zeigten ähnliche Wirkungen der Substanzen auf somatischem, psychischem und intellektuellem Sektor, die jedoch bei der veränderten Ausgangslage der psychischen und geistigen Wesenszüge der Versuchspersonen oft zu anderen Ergebnissen führten. Der thymoleptische Effekt der Stoffe ist z.B. beim Depressiven erwünscht, die gesteigerte Kontaktbereitschaft veranlaßt den autistischen Katatonen, sich wieder seiner Umwelt zuzuwenden. Die Anwendung dieser Mittel verspricht gerade bei akuten Psychosen und Neurosen günstige Aussichten für die Zukunft. Vor allem das Auftauchen vergessener Erinnerungen und die erhöhte Aufgeschlossenheit beim Patienten ermöglichen dem Arzt eine gezielte Psychotherapie. Die Wirksamkeit auf chronische Schizophrenien mit geistigem Abbau und affektiver Versandung dürfte dagegen sehr gering sein.

3. Bedeutung der Pilze als Rauschmittel

Der uralte Wunsch des Menschen, sich über das graue Alltags-einerlei zu erheben, ließ ihn oft fast instinktiv Mittel finden, die ihm durch ihre psychophysiologischen Wirkungen in den ersehnten Zustand versetzten, die Genuß- und Rauschmittel. Auch hierfür fanden Pilze, die Stoffe enthalten, die neben anderen psychotropen Effekten vor allem Euphorie und Sinnes-täuschungen hervorrufen - von LEWIN 1924 "Phantastica" genannt - seit langem Verwendung.

Bereits bei der Eroberung Mexikos lernten die Spanier eigenartige Kulthandlungen der Eingeborenen kennen, bei denen sich

die Teilnehmer durch die Einnahme von Pilzen in Trance versetzten. Durch die Christianisierung des Landes wurden diese heidnischen Riten verdrängt und gerieten z.T. in Vergessenheit. Erst in den letzten Jahren entdeckten V.P. und R.G. WASSON und R. HEIM auf ausgedehnten ethnographischen Forschungsreisen in entlegenen Gebirgstälern des mittleren und südlichen Mexikos Eingeborene, die auch heute noch diese "Zauberkräftigen heiligen Pilze" zu geheimen Kulthandlungen und zum persönlichen Gebrauch als Rauschmittel und Narkotika verwenden. Weiterhin stellte sich ab Hand von alten Fresken und Skulpturen heraus, daß diese "halluzinogenen Pilze" bereits seit Jahrtausenden fest in religiöse Riten eingebaut waren und in der alten Mayakultur eine solch zentrale Stellung einnahmen, daß HEIM 1965 von einer "véritable religion des champignons sacrés" spricht. Es handelte sich dabei um Pilze der Gattungen *Psilocybe* und *Stropharia*, deren Wirkstoffe *Psilocybin* und *Psilocin* wir bereits im vorigen Kapitel (S.16) besprochen haben.

Anscheinend sprechen nach GAUMANN 1959 die Indianer auf diese Substanzen stärker an als wir Europäer.

Ähnliche Erscheinungen eines mysteriösen Wahnsinns, der von australischen Autoren als "madness" bezeichnet und wahrscheinlich ebenfalls durch Aufnahme von Pilzen der Gattungen *Boletus* und *Russula* hervorgerufen wird, beobachteten M.REAY 1960, R.HEIM und R.G.WASSON 1962 in Zentral-Neuguinea unter den Eingeborenen (HEIM 1965).

Ebenfalls in vorchristliche Zeiten geht der Gebrauch des Fliegenpilzes, um den sich eine Unmenge von Sagen und Geheimnissen rankt, als Rauschmittel zurück. So glaubt GRAVES, daß die "Nahrung der Götter", das Ambrosia der griechischen Mythologie, eingebaut in den Kult des Gottes Dionysos in einer Abkochung von *Amanita muscaria* bestand, der den von ihm Berauschten die in den Sagen überlieferten übermenschlichen Kräfte verlieh. So bringt man ihn auch in Verbindung mit den Heldentaten der alten norwegischen Germanen, die man "Berserker" nannte (LEWIN 1924, HORNE und Mc.CLUSKIE)

und deren Ausbrüche von "Raserei und Wildheit" bis in unseren Sprachgebrauch als Berserkerwut überliefert wurden. Als Reste dieser Verwendung des Fliegenpilzes kann man den von den Reisenden des 18. und 19. Jahrhunderts (LANGSDORFF, KRASCHENINIKOW u.a.) Gebrauch von *Amanita muscaria* als begehrtes Rauschgift bei einigen primitiven Stämmen im Norden und Nordosten Sibiriens, wie Tungusen, Korjaken, Kamtschadalen, Samojeden, Tschuktschen, Jakuten, Ostijaken und Jukagiren bezeichnen, die diesen Pilz manchmal sogar gegen ein Rentier eintauschen. Sie verspeisen den Pilz entweder in getrocknetem Zustand oder trinken Auszüge desselben, die zur besseren Magenverträglichkeit mit dem Saft der Trunkelbeere (*Vaccinium uliginosum*) oder des schmalblättrigen Weidenröschens (*Epilobium angustifolium*) gemischt werden. Die so Berauschten geraten in einen Zustand von Trunkenheit, der sich in einem Gefühl inneren Glücks und Zufriedenheit äußert. Dann setzten Halluzinationen und Illusionen ein. Als charakteristisch wird die Tatsache erwähnt, daß man unter dem Einfluß dieser Wirkstoffe zuweilen alle Gegenstände ins Unermeßliche vergrößert sieht (Makropsie). Legt man z.B. den Berauschten ein Stöckchen vor, so springen sie mit einem gewaltigen Satz darüber hinweg. Auf diese Weise kann man eventuell die überlieferten Heldensagen der alten Germanen deuten (KLAR), denen in diesem Zustand die Erlegung eines Tieres als Überwältigung eines Ungeheuers vorkam. Bei manchen Personen überwiegen von Anfang an Wahnvorstellungen und Erregungszustände, die sich bis zu Tobsuchtsanfällen steigern können.

Wie V.P. und R.G. WASSON 1957 berichten, nehmen die oben angeführten Stämme den Fliegenpilz vor allem bei gemeinsamen Festen zu sich. Da dieser Pilz sehr teuer und wertvoll ist, trinken die Teilnehmer dieser Orgien ihren eigenen Harn bzw. den Harn anderer Berauschter, um auf diese Weise den begehrten Zustand öfters zu erneuern. Die verantwortlichen

Substanzen werden anscheinend zum größten Teil wieder unverändert durch die Nieren ausgeschieden. Mit der auch in diesen Gegenden um sich greifenden Verbreitung des Alkohols (SCHMIEDERBERG und KOPPE) scheint die Verwendung dieses Pilzes zurückgegangen bzw. verschwunden zu sein.

Angeblich zeigen auch die Rentiere eine besondere Vorliebe für den Fliegenpilz (GEBNER) und geraten nach seinem Genuß in einen Zustand von Trunkenheit.

Als Kuriosum sei hier das Wiederaufleben dieser uralten primitiven Bräuche in unserer modernen Zeit der Pillen, Tabletten und Drogen erwähnt. So berichten HORNE und Mc.CLUSKIE von der Vergiftung eines jungen Mannes, der zusammen mit seinem Bruder eine Abkochung aus rund 20 Fliegenpilzen vermengt mit Bier getrunken hatte. Er gab zu, daß sie sich ebenso wie mehrere ihrer Freunde seit einigen Jahren durch den Genuß von 3 bis 4 Fliegenpilzen in einen Zustand der vermeintlichen Stärke und Unverwundbarkeit verbunden mit erotischen Empfindungen versetzten. Weiterhin erzählte er, daß in gewissen Cafés und Bars von London eine Mischung aus gleichen Teilen Fliegenpilzextrakt und Wodka als "Catherine-Cocktail" verkauft wurde, so genannt nach Katharina der Großen, die eine chronische "Amanita muscaria - Süchtige" war.

4. Bedeutung der giftigen Pilze

a) Definition der Begriffe Giftpilz und Pilzvergiftung

Die Zahl der eigentlichen Giftpilze ist verhältnismäßig gering (GEBNER, WASICKY, ALDER 1961). Nach HOMANN stehen in Mitteleuropa rund 20 Giftpilze ungefähr 500 essbaren Pilzen gegenüber. RAUH gibt ihren Anteil mit 12 - 15% an. Von diesen scheidet durch scharfen, bitteren Geschmack, der ein Gericht völlig ungenießbar macht, in etwa die Hälfte aus, wie scharfe Täublinge, Gallenröhrling, Schwefelkopf, und nur 5 - 7 Arten (ALDER 1961, RAUH) sind für den Menschen wirklich gefährlich. Trotzdem nehmen Pilzvergiftungen seit alters her eine hervor-

ragende Stelle unter den durch Pflanzen verursachten Schädigungen der menschlichen Gesundheit ein (LOCHTE).

Als Giftpilz (GEBNER, WASICKY) werden Pilze bezeichnet, die unter physiologischen Verhältnissen Giftstoffe als normale Bestandteile des Pilzstoffwechsels enthalten. Unter einer Pilzvergiftung im engeren Sinne verstehen wir die nach Genuß dieser Pilze durch deren Toxine auftretenden Erkrankungen. Abgegrenzt davon werden Krankheitsbilder, die nicht selten auch durch eßbare Pilze entstehen. Es handelt sich dabei um Erscheinungen, die entweder durch deren schwere Verdaulichkeit infolge ihres hohen Chitinanteiles (SCHORMÜLLER, ALDER) durch unsachgemäße Zubereitung - bekanntermaßen eignen sich viele Speisepilze nicht für den Genuß in rohem Zustand (ALDER, HOHENESTER u.a.) - oder durch sekundäres Auftreten von Toxinen in verdorbenen Pilzen entstehen. Letzteres fällt in den Kreis der Nahrungsmittelvergiftungen. Der hohe Eiweißgehalt der Pilze bietet einen idealen Nährboden für Bakterien, z.B. der Paratyphusgruppe. Zudem zersetzt sich dieses Eiweiß sehr rasch und bildet giftige Abbauprodukte. So wies REUTER im Autolysat von Steinpilzen (*Boletus edulis*) Phenyläthylamin nach. WASICKY hält einen beschleunigten Stoffwechsel (Wachstum, Reifung, nekrobiotische Prozesse) für "pilzspezifisch" und berichtet sogar über tödliche Fälle, bei denen sich keinerlei Giftpilze nachweisen ließen. MOESCHLIN, ALDER u.a. empfehlen daher, daß Pilze innerhalb von 24 Stunden zubereitet und verwertet werden und warnen vor allem vor dem wiederholten Aufwärmen eines Pilzgerichtes.

Nach MOENCH, BUCK, HOMANN, LOCHTE, ALDER, RAUH u.a. steht außerdem fest, daß für die Verträglichkeit ein und derselben Pilzart individuelle und rassische (GÄUMANN 1959) Unterschiede bestehen. Sie erklären zusammen mit der Tatsache, daß der Wirkstoffgehalt der Pilze je nach Standort, Bodenbedingungen und Wetter stark variiert (HABERSAAT, MOENCH u.a.), die sich oft widersprechenden Berichte über die Giftigkeit eines Pilzes.

Essbare Pilze können auch toxisch wirken, wenn sie zusammen mit bestimmten Drogen genossen werden (YAFFEE).

b) Unterscheidung von giftigen und essbaren Pilzen

Seit ältesten Zeiten wurden eine Unzahl von Erkennungszeichen für die Giftigkeit eines Pilzes angegeben, wie Standort, Farbe, Form, Geruch, Geschmack, Verfärbung beim Schneiden oder Kochen, Tierfraß, Madenbefall etc., bzw. Mittel zur Entgiftung eines Pilzgerichtes aufgeführt, z.B. Braten in Öl, Einlegen in Salzwasser, Zugabe von Essig usw., die sich aber meist - gerade bei unseren gefährlichsten Pilzen - samt und sonders als nutzlos erwiesen.

Wenn auch die Ansichten der Römer, daß Pilze, die neben rostigen Nägeln oder Schlangennestern wachsen (PLINIUS, XXII, 46, 47) "zu verwerfen seien", während die unter der Sommereiche (XVI, 11) oder auf Wiesen (HORAZ II, IV, 20) wachsenden "die bewährtesten sind" - inzwischen begraben wurden, lassen sich doch "alte Volksproben", die ebenso vom Aberglauben geprägt sind, schwerlich ausrotten. Besonders beliebt ist auch heute noch das Mitkochen einer Zwiebel oder eines silbernen Löffels, die sich bei Anwesenheit von giftigen Pilzen schwarz färben sollen. Diese Schwarzfärbung zeigt jedoch nur das Vorhandensein von Schwefelwasserstoffspuren an, die beim Eiweißabbau aus schwefelhaltigen Aminosäuren entstehen. Sie ist nach GLAS und RAUH höchstens ein Hinweis auf eine bereits eingetretene Zersetzung des Gerichtes und hat mit der Anwesenheit von Giftpilzen nichts zu tun.

Es gibt auch heute noch kein einziges, sicheres, allgemeines Unterscheidungsmerkmal zwischen essbaren und giftigen Pilzen!

Vor Vergiftungen schützt nur die genaue botanische Kenntnis der Pilze (ALDER, GEBNER, MOESCHLIN, EASICKY, NEUHANN, RAUH u.a.) und zwar nicht nur der essbaren, sondern auch der wichtigsten,

leicht mit ihnen verwechselbaren giftigen, wie bereits von älteren Autoren immer wieder betont wird (KROMBHOLZ, WENDT, ERBEN).

Einer sicheren Bestimmung der Pilze erwachsen große Schwierigkeiten:

durch den außerordentlichen Artenreichtum

HENNIG schätzt, daß von den rund 3 000 in Mitteleuropa vorkommenden Pilzarten nur 800 allein auf Grund ihrer makroskopischen Morphologie (spezielle Gestalt und Färbung des Fruchtkörpers) ohne Hinzuziehung mikroskopischer Merkmale differenziert werden können;

durch mannigfache Veränderungen im Äußeren der Pilze ein und derselben Art je nach Standort, Wetterbedingungen und Alter (LOCHTE, GEBNER u.a.).

So bieten vor allem die wenig charakteristischen Merkmale junger Pilze immer wieder Anlaß zu Verwechslungen;

durch wechselnde und unsichere Benennung, bzw. eine große Zahl von Synonymen für ein und dieselbe Art (NEUHANN).

c) Häufigkeit der Vergiftungsfälle

Die Aufzählung von berühmten Persönlichkeiten, die durch Pilze den Tod fanden, ist eine beliebte Einleitung in Arbeiten über Pilzvergiftungen. (s. PAULET, KROMBHOLZ, FAUST, FORD 1906, NEUHANN u.a.). Angefangen vom wohl ältesten bekannten Fall, der Gattin und den Kindern des Euripides, nannte man z.B. die Kaiser Tiberius Claudius, Jovian, Karl VI, Papst Klemens VII. und die Witwe des Zaren Alexis VI.. Versucht man, einige dieser Berichte nachzuprüfen (PASTOR, LEWIN 1920), so stößt man meist auf andere Todesursachen (Kaiser Jovian starb z.B. an einer Kohlenmonoxydvergiftung) oder vage, unbestimmte Überlieferungen. Karl VI. dürfte nach dem von PACHNER berichteten Krankheitsverlauf, der zehn Tage nach Pilzgenuß zum Tode führte, wirklich an einer Knollenblätterpilzvergiftung gestorben sein. Obwohl die

Mykologen die Bedeutung der Pilzvergiftungen in der Geschichte vielleicht etwas übertreiben, zeigen diese - wenn auch oft unbewiesenen - Fälle doch, daß durch Pilze bedingte Intoxikationen seit langem ein fortwährendes Problem darstellen. Bei den früher noch wenig entwickelten botanischen Kenntnissen und der Vorliebe gewisser Zeitalter für die Anwendung von Giften, ist es wahrscheinlich, daß zufällige und absichtliche Todesfälle durch Pilzgenuß nicht selten waren. So berichtet PLINIUS (XXII, 47) über ganze Familien und Gastgesellschaften, die nach Pilzgenuß umkamen und fragt: "Quae voluptas tam ancipitis cibi?" PAULET erwähnt allein in den Jahren 1749 - 1788 mehr als 100 Todesfälle aus dieser Ursache in der Umgebung von Paris.

Heute ist das Vorkommen von Pilzvergiftungen je nach Wachstum und Sammelgewohnheiten regional sehr verschieden (HOMANN). TYLER Jr. 1963 unterscheidet zwischen "mycophobic and mycophilic nations".

Zu den mycophobic nations zählen neben Skandinavien vor allem die Vereinigten Staaten und Großbritannien, wo Pilze wenig gesammelt werden, und naturgemäß nachfolgende Vergiftungen selten auftreten. So wurden 1957 in Amerika 8, 1958 4 und 1959 2 Todesfälle gemeldet (CANN und VERHULST). In der englischen Literatur wurden von 1921 - 1949 38 (BIRCH) und von 1949 - 1961 keine einzige tödliche Pilzvergiftung berichtet (ELLIOT). Zu den Ländern, in denen gerne Pilze gesammelt werden, gehören vor allem Frankreich, Italien, die Schweiz und Deutschland.

In der Schweiz, die als einziges Land seit 1919 alle Fälle von Pilzvergiftungen statistisch erfaßt, traten z.B. in 40 Jahren (1919 - 1958) 1980 Intoxikationen durch Pilze mit 46 Todesfällen (4,85%) auf (ALDER 1960).

In Deutschland sind wir - trotz dauernder Bemühungen der Zentralstelle für Pilzforschung und Pilzverwertung in München um eine statistische Ermittlung der durch Pilzver-

giftung erkrankten und verstorbenen Personen - auf die Angaben der Presse angewiesen. Nach einer persönlichen Mitteilung von Dr. BÖTTICHER lag die Zahl der letalen Pilzvergiftungen in den Jahren zwischen 1952 - 1962 jährlich zwischen 40 und 50. Die Zahl der Intoxikationen ohne tödlichen Ausgang dürfte ein Vielfaches betragen. Im Jahre 1963, einem Jahr mit sehr starkem Pilzwachstum, wurden 20, 1964, einem ausgesprochen schwachen Pilzjahr, keine und 1965, einem Jahr mit mittlerem Pilzwachstum, 12 tödliche Pilzvergiftungen registriert. Auf dem Lande und in kleineren Städten, wo noch häufiger Pilze gesammelt werden, ist die Anzahl der durch sie bedingten Vergiftungen naturgemäß auch relativ höher als in Großstädten. So betrug z.B. in Erlangen (SCHMID et al.) der Anteil der Pilzintoxikationen an den gesamten akuten Vergiftungsfällen von 1958 - 1963 10%, während in den Großstädten Zürich und Nürnberg diese Gruppe vergleichsweise nur 2,5% bzw. 3% ausmacht (MOESCHLIN, MEYTHALER und EICHORN).

In den Nachkriegsjahren, wo die Nahrungsknappheit auch viele Menschen zum Sammeln verleitete, denen es an jeglicher Erfahrung über Aussehen und Wirkung von Pilzen fehlte, finden wir besonders zahlreiche Angaben über Pilzvergiftungen in der Literatur (ARMBRUST und LEONHARD, BRAUCH, STRAUS, PROBOESE, KRAUSE, MANGEL, SCHÖPFLING und GROSSER, REITER und BORCHERS). Nach BÖTTICHER hängt das Auftreten von Vergiftungen sehr vom Pilzwachstum des betreffenden Jahres ab.

Heute zählen häufig Fremdarbeiter, meist Italiener (KISTLER und SCHMID, ALDER 1960, LEHMANN), aus Unkenntnis oder wegen der bereits erwähnten Abweichungen der Toxizität mancher Pilze in verschiedenen Ländern unter die Opfer.

d) Forensische Bedeutung der Pilzvergiftungen

Bei den Pilzvergiftungen haben wir es meist mit Unglücksfällen infolge Verwechslungen zu tun, die durch Unkenntnis, Leichtsinn und Aberglauben herbeigeführt werden. In erster Linie bewegen sie den Kliniker, sind jedoch keineswegs, wie das öfteren behauptet wird, forensisch bedeutungslos. So schreibt RICHTER 1905 in "Gerichtsärztliche Diagnostik und Technik": "Schwammvergiftungen haben ein geringes forensisches Interesse. Morde sind wohl noch nicht vorgekommen. In den großen Städten wird durch die Marktpolizei der Verkauf von giftigen Schwämmen verhütet. Auch die wenigen Fälle, die wir im Laufe der Jahre obduziert haben, waren sämtlich nicht durch gekaufte Schwämme herbeigeführt worden, sondern durch solche, welche von den Angehörigen oder den Verstorbenen selbst gesammelt worden waren. Eine Verurteilung ist meines Wissens in keinem der Fälle erfolgt. Es dürfte aber auch kaum möglich sein, in solchen Fällen den Beweis der Fahrlässigkeit zu liefern, zumal da ein bestimmtes, für den Laien erkennbares Merkmal der Giftschwämme nicht bekannt ist."

aa) Giftmorde durch Pilze

Giftmorde durch Pilze findet man kaum in der Literatur erwähnt. Der bekannteste Fall ist wohl die Vergiftung des Kaisers Tiberius Claudius (54 n.Ghr.) durch seine Gemahlin Agrippina mit seinem Lieblingsgericht, den "BOLETI". PLINIUS (XXII,46) erwähnt es als Beispiel, daß diese öfters zu Verbrechen benutzt wurden:

"...posuerim (boletos) ..., sed immenso exemplo in crimen adductos..." MARTIAL (I, 20) spielt in seinen Epigrammen darauf an und IUVENAL bemerkt in seinen Satiren (V,147):

"Boletus domino, sed quales Claudius edit,
Ante illum uxoris, post quem nil amplius edit."

Es ist allerdings nicht geklärt, ob Agrippina dies durch einen Giftpilz als solches oder durch ein anderes hineingemischtes Gift ausführte.

TARDIEU beschreibt ebenfalls einen Fall, bei dem Pilze als geeignete Vehikelsubstanz benutzt wurden, um Arsen heimlich beizubringen.

GALTIER erwähnt zwei Kinder, die von ihrer Mutter durch Pilze vergiftet wurden.

INOKO teilt aus Japan einen Giftmord durch den Pantherpilz mit.

Die Seltenheit dieser Berichte beweist nicht, daß derartige Verbrechen nicht vorkommen, sondern mag durch die sehr großen Schwierigkeiten ihrer Aufklärung bedingt sein.

Die Annahme liegt nahe, daß z.B. die giftigen Knollenblätterpilze, die während mehrerer Monate des Jahres leicht zugänglich und in einem Gericht weder durch Geruch noch durch Geschmack zu bemerken sind, öfters Mittel zu raffinierten Verbrechen waren, deren Opfer an den "verschiedensten Todesursachen" starben.

bb) Selbstmorde durch Pilze

Selbstmorde bzw. Selbstmordversuche durch den Genuß von Pilzen fanden sich ebenfalls einige. Man benutzte dazu mit Vorliebe den im Volke bekanntesten Giftpilz, den Fliegenpilz.

So berichtet SCHRÖTER von einer 29-jährigen Arbeiterfrau, die im Jahre 1880 an einer dem Krankheitsverlauf und der Beschreibung der Pilze nach ziemlich wahrscheinlichen Fliegenpilzvergiftung starb. Nach Zeugenaussagen mußte es sich um einen Suicid handeln, da die Frau bei der Zubereitung auf die Giftigkeit der sehr auffälligen Pilze hingewiesen wurde. Trotzdem aß sie das Gericht, ohne jedoch ihren Kindern davon abzugeben. SCHRÖTER fügt hinzu, daß er bisher noch

keinen Selbstmord durch den Genuß giftiger Pilze in der Literatur gefunden habe.

Ein weiterer vermutlicher Selbstmord ereignete sich im Jahre 1889. Auf Grund des Sektionsbefundes nahm man eine Phosphorvergiftung an, während R.MÜLLER diese der Anamnese wegen bezweifelt und eine Intoxikation durch Fliegenpilze für mindestens ebenso wahrscheinlich gehalten hat. Nach unseren heutigen Erfahrungen spricht die Menge des genossenen Pilzes, die Latenzzeit bis zum Auftreten der klinischen Symptome und der Obduktionsbefund für eine Knollenblätterpilzvergiftung.

ERBEN beobachtete einen Suicid durch ein "Muscarinpraeparat" (Fliegenpilzextrakt) zusammen mit Morphinum. In der neueren Literatur finden sich zwei mißglückte Selbstmordversuche. 1955 aß ein 23-jähriger Student vier Fliegenpilze. Mit der Uhr in der Hand erwartete er die ersten Vergiftungssymptome, die er zeitlich genau verfolgte und registrierte. Sie setzten dann auch stürmisch ein, ohne jedoch zum Tode zu führen (DONALIES und VOLZ).

Einen ebenfalls ernstgemeinten Suicidversuch (GRABENER) unternahm eine 49-jährige "gute Pilzkennerin", die drei selbstgesammelte Knollenblätterpilze aß. Als ihre Stieftochter den Genuß der ihr verdächtig erscheinenden Pilze verweigerte, verzehrte sie diese selbst mit den Worten: "Dann muß ich eben alleine sterben".

cc) Fahrlässige Körperverletzung

Die meisten Pilzvergiftungen werden durch selbst- oder von einem Familienmitglied gesammelte Pilze hervorgerufen. Jedoch können sich unter den in Geschäften, auf dem Markt oder von ambulanten Händlern dargebotenen Pilzen Giftpilze befinden. Der Genuß derselben kann zu leichten bis schweren Vergiftungen führen. Auf Antrag der Betroffenen oder Staatsanwaltschaft, wenn es das öffentliche Interesse erfordert, kann die hierdurch

erfolgte fahrlässige Körperverletzung strafrechtlich verfolgt werden. Wir hatten 1965 zwei derartige Fälle zu untersuchen. Einer wird auf S.132 näher beschrieben werden.

Zu erwähnen sei an dieser Stelle, daß der Verkauf von Pilzen in Geschäften oder auf Grund des § 15 der Gesundheitsordnung vom 23.12.1908 (GVBl.S. 685) in der Fassung der Verordnung vom 7.3.1913 (GVBl.S.202) und § 10 Abs. 1 des Polizeigesetzes vom 21.11.1913 (Ges.B.249) regional durch sehr wenig verschiedene Polizeiverordnungen geregelt ist. So sind nur bestimmte Pilzarten zum Verkauf zugelassen. Der Verkauf von Pilzgemischen und alten oder verdorbenen Pilzen ist verboten. Mancherorts ist das Feilbieten von Pilzen nur Personen gestattet, die im Besitz eines durch eine Prüfung erworbenen Pilzscheines sind (KLAR).

III. Einteilung der Giftpilze auf Grund ihrer Wirkung auf den menschlichen Organismus.

Die Einteilung der Giftpilze nach botanischen Merkmalen (z.B. ERBEN, FAUST) ist für medizinische Zwecke unpraktisch, da die Giftpilze zusammen mit den Speisepilzen den verschiedensten Gattungen angehören.

Eine Klassifizierung auf Grund der chemischen Natur der Wirkstoffe ist nicht empfehlenswert, weil viele Toxine in ihrer chemischen Konstitution nicht aufgeklärt sind und meist mehrere Toxine zur Wirkung kommen.

Die gebräuchlichste Einteilung der Giftpilze erfolgt nach Art der durch sie hervorgerufenen Krankheitserscheinungen. HUSEMANN stellte als erster drei Formen des "Mycetismus" auf: den Mycetismus intestinalis, choleriformis und cerebralis. FORD 1926 fügte zwei weitere Gruppen, den Mycetismus nervosus und sanguineus hinzu. Dies entspricht der Aufteilung nach ROCH in fünf verschiedene Syndrome.

Heute werden die durch Toxine ausgelösten Wirkungen auf den menschlichen Organismus als Basis zur Klassifizierung der einzelnen Giftpilze verwendet (ALDER 1961, KISTLER und SCHMID TYLER Jr. 1963 u.a.), wobei MOESCHLIN, GAUTIER et al. und HOMANN mehr die Latenzzeit bis zum Einsetzen der Symptome in den Vordergrund stellen.

Wir wählten folgende Einteilung:

- 1) Giftpilze mit überwiegender Wirkung auf den Gastrointestinaltrakt
- 2) Giftpilze mit überwiegender Wirkung auf das Zentralnervensystem
- 3) Giftpilze mit überwiegender Wirkung auf die parenchymatösen Organe
- 4) Bedingt giftige Pilze

Pilze, die mehrere, z.T. entgegengesetzt wirkende Komponenten enthalten, werden nach ihrer vorherrschenden Symptomatik eingereiht.

1. Giftpilze mit überwiegender Wirkung auf den Gastrointestinaltrakt

Diese erste Gruppe der eigentlichen Giftpilze zeigt meist leichte Vergiftungserscheinungen, die durch lokale Wirkungen drastischer Art auf den Magen - Darmtrakt hervorgerufen werden.

Dazu zählen nach ALDER 1961, HABERSAAT, ROCH u.a. vor allem:

- Riesenrötling (*Entoloma lividum*), weitere Rötlinge
- Tigerritterling (*Tricholoma pardinum*)
- Karbol-Egerling (*Agaricus xanthoderma*)
- Grünbüscheliger Schwefelkopf (*Hypholoma fasciculare*)
- scharfe Täublinge (*Russula*arten)
- scharfe Milchlinge (*Lactarius*arten)
- verschiedene Röhrenpilze (*Boletus*arten)
- verschiedene Keulenpilze (*Clavaria*arten)

Vergiftungsbild:

Die Symptome setzen meist 1/2 - 2 - höchstens 4 Stunden nach der Mahlzeit ein und äußern sich in Übelkeit, Erbrechen, profusen Durchfällen und mehr oder minder starken Bauchschmerzen. In schwereren Fällen können Zeichen der Exsikkose und des Elektrolytverlustes mit Kreislaufkollaps und Wadenkrämpfen auftreten.

Differentialdiagnose:

Gastroenteritis; Lebensmittelvergiftung, Arsenvergiftung.

Prognose:

Meist sind die Patienten innerhalb weniger Tage wiederhergestellt. Nur bei geschwächten Personen mag es hin und wieder zu Komplikationen kommen. So beobachteten SCHOFFLING und GROSSER bei 17 Fällen eine Aspirationspneumonie, eine Uraemie (durch extrarenale Acetonaemie oder akute Nephrose ?) und ein Ulcusrezidiv durch haemorrhagische Gastritis. MOESCHLIN verlor bei dieser Gruppe von Giftpilzen innerhalb von 15 Jahren durch Intoxikation mit *Boletus satanas* (s.u.) mit nachfolgender Uraemie und Bronchopneumonie einen Patienten (Alkoholiker!). Vergiftungen durch den Riesenrötling und Tigerritterling verlaufen zuweilen etwas schwerer und zeichnen sich durch längere Rekonvaleszenz mit nervösen Depressionen aus (MOESCHLIN, ALDER 1961). ROCH unterscheidet deshalb von seinem "Syndrome résinoidien" noch ein "Syndrome entolomien", und die Franzosen nennen *Entoloma lividum* auch "Champignon perfide".

Therapie:

Die Therapie besteht in der bei allen Vergiftungsbildern gleichen allgemeinen Behandlung:

1. Entfernung der Giftstoffe aus Magen und Darm

Eine künstliche Auslösung des Erbrechens durch Apomorphin ist meist nicht nötig. Trotzdem führt man in den ersten Stunden vorsichtshalber eine Magenspülung durch und gibt ein Abführmittel.

2. Adsorption der Giftstoffe durch Tierkohle

3. Wasser- und Elektrolytersatz durch Infusionen bei längerem starkem Erbrechen und Durchfällen

4. Stimulantia bei Kreislaufkollaps

Wirkungsmechanismus:

Die Wirkstoffe dieser Pilze sind noch unbekannt. Man vermutet harzähnliche Substanzen, die lokal die Schleimhaut des Verdauungstraktes reizen. Zu resorptiven Erscheinungen kommt es hierbei nicht.

Anmerkung:

Einige obengenannte Pilze werden in der älteren Literatur beschuldigt, tödliche Intoxikationen hervorgerufen zu haben.

Der Birkenreizker (*Lactarius torminosus*) soll nach GOLDMANN, wenn er nicht sachgemäß entgiftet wird, schwerste Vergiftungen mit gastrointestinalen Erscheinungen, Anurie, Kollaps, Mydriasis, Ikterus und Delirien verursachen.

Dasselbe berichtet ERBEN vom Speiteufel (*Russula emetica*).

In der neueren Literatur fanden sich derartige Intoxikationen nicht beschrieben. Die klinischen und pathologisch-anatomischen Befunde ähnelten denen bei Vergiftung mit *Amanita phalloides*, so daß man bei den geschilderten Fällen eventuell Verwechslungen dieser Pilze annehmen dürfte.

Der Satanspilz (*Boletus satanas*) soll nach einem Selbstversuch von KROMBHOLZ neben den im Vordergrund stehenden gastrointestinalen Erscheinungen auch deutliche Muscarinsymptome bewirken. In der neueren Literatur findet man außer dem von MOESCHLIN angegebenen Todesfall nur noch drei Fälle, die BISCHOFF 1942 beschreibt. Dabei beobachtete er mehr oder weniger starke Störungen des Zentralnervensystems mit Erregungszuständen, motorischer Unruhe, Zwangslachen und weitgehender Bewußtseins-trübung. Einmal kam Speichelfluß dazu. BISCHOFF räumt jedoch

ein, daß eventuell auch Fliegenpilze in Frage kamen.

2+ Giftpilze mit überwiegender Wirkung auf das Zentralnervensystem

a) Pilze, die ein Muscarinsyndrom hervorrufen

Zu den Pilzen, die durch reine Muscarinwirkung bedingte Vergiftungen bewirken, gehören:

Rißpilze oder Faserköpfe (*Inocyben*), von denen es nach HEIM 1931 72 Arten gibt, so der

rübenstichige Rißpilz (*Inocybe napipes*),
kegelig geschwaifte Rißpilz (*Inocybe fastigiata*) und
ziegelrote Rißpilz (*Inocybe Patouillardi* Bresadola),
Trichterlinge (*Clitocyben*), vor allem der
Bachtrichterling (*Clitocybe rivulosa*) und
weiße Feldtrichterling (*Clitocybe dealbata*)

Die häufigsten Vergiftungen ruft der ziegelrote Rißpilz hervor, der leicht mit den schmackhaften Mairitterlingen (*Tricholoma Georgii*) und den Wiesenchampignons (*Agaricus campestris*) verwechselt wird. Als wichtiges Unterscheidungsmerkmal gilt die rötliche Verfärbung des Pilzes nach dem Pflücken, sowie an Verletzungs- und Bruchstellen (SCHURZ (1) u.a.).

Über Vergiftungen durch Rißpilze wird seit 1790 berichtet (WASICKY). Die erste genaue Beobachtung der Symptome brachte STAUDE 1857 bei einer Intoxikation von drei Personen und einem Hund. Seither beschrieben u.a. DITTRICH 1916 u.1918, FAHRIG 1920, MECKE 1934, WASICKY 1937, ROCH 1928 und in neuerer Zeit SCHÖFFLING und GROSSER 1955, Alder 1961, KISTLER und SCHMID 1963 und MOESCHLIN 1964 diese Vergiftungsbilder.

Vergiftungsbild:

Meist nach sehr kurzer Latenzzeit (wenige Minuten - 1 Stunde) kommt es plötzlich zu starken Schweißausbrüchen ("Syndrome sudorien"), Salivation, Tränenfluß, Hitzegefühl, Bradycardie selten mit irregulärem Puls, Miosis und Sehstörungen durch Akkomodationskrampf. Gastrointestinale Erscheinungen bestehen in Form von Übelkeit, Erbrechen und Durchfällen bei vermehrter Darmperistaltik. Sie können jedoch auch fehlen. Außerdem klagen manchen Patienten über schmerzhafte Pollakisurie. In schweren Fällen treten Kollaps mit Absinken des Blutdruckes und Herzversagen mit Dyspnoe, Cyanose und Lungenödem hinzu.

Differentialdiagnose:

Diese typischen Zeichen einer Muscarinvergiftung sind kaum als Symptome anderer Krankheitsbilder zu verkennen. Differentialdiagnostisch wäre nur an eine Vergiftung durch Phosphatinsektizide (E 605) zu denken.

Pathologisch-anatomisch liegen keine charakteristischen Befunde vor.

Prognose:

In leichteren Fällen Genesung nach 8 - 12 Stunden, schwere können tödlich verlaufen. Letalität nach WICKI 4%, nach NEUHANN 5 %. Bei rechtzeitiger Behandlung müssten sich Todesfälle vermeiden lassen.

Therapie:

allgemein: (s.S.31) möglichst rasche Entleerung des Magen-Darmtraktes, besonders bei fehlenden gastrointestinalen Erscheinungen und in ernsten Fällen Stützung von Herz und Kreislauf.

speziell: Die Muscarinintoxikation ist die einzige Pilzvergiftung, bei der wir ein spezifisches Antidot, nämlich Atropin besitzen. Dieses wirkt meist schlagartig. Man injiziert 1 - 2 mg im., eventuell langsam iv.. Bei Bedarf mehrmalige Wiederholung der sc. oder im. Applikation.

Wirkungsmechanismus:

Das Toxin, welches sich bei Vergiftungen durch die Inocybe- und Clitocybearten ausschließlich wirksam zeigt, ist das Muscarin. Die ebenfalls vorhandenen Bestandteile Acetylcholin und Cholin sind bei peroraler Anwendung in den angegebenen Dosen ohne Bedeutung, da sie nicht ausreichend schnell und unzersetzt resorbiert werden, um in wirksamen Mengen an die Erfolgsorgane zu gelangen (HAUSCHILD).

Die geschilderte klinische Symptomatik läßt sich unschwer aus der Wirkung des Muscarins als Vagomimeticum ableiten. Es erregt die postganglionären cholinergischen Rezeptoren, also den parasympathischen Zweig des vegetativen Nervensystems und führt deshalb zu Blutdrucksenkung, Verlangsamung der Herztätigkeit bis zum diastolischen Stillstand, Beschleunigung der Atmung, bei höherer Dosierung Erschwerung derselben durch Bronchokonstriktion, Erhöhung des Darmtonus, Steigerung der Sekretion der serösen Drüsen, Miosis und Akkomodationskrampf. Diese seit langem bekannte reine, periphere, parasympathische Wirkung beschränkt sich, im Gegensatz zum Acetylcholin, auf die visceralen autonomen Endigungen, ohne irgendwelche Einflüsse auf ganglionäre Synapsen oder Muskelerdplatten. Wie EUGSTER und WASER 1954 und 1955 durch Experimente mit reinem Muscarinchlorid beweisen konnten, fehlt auch bei sehr hohen Dosen (bis 20 000-fache minimale Wirkungs-dosis) jegliche "nikotinische oder curareartige" Wirkung. Die früher wiederholt gemachten anderslautenden Angaben (STARKENSTEIN - POHL - ROST) sind wohl eine Folge der Verunreinigung durch Cholin und andere quartäre Basen, bzw. wurde sogenanntes "synthetisches Muscarin" (Cholinnitrit, Oxycholin) untersucht.

Cholinesterasehemmung verstärkt den Muscarineffekt um das zehnfache. Vielleicht ist es als Ester (Acetylmuscarin) im Körper wirksam. Ein rascher enzymatischer Abbau ist auch durch die kurzdauernde Wirkung und das Fehlen von

Kumulation wahrscheinlich. (WASER 1955).

b) Pilze, die ein Pantherinasyndrom hervorrufen

Zu den Pilzen, die Vergiftungserscheinungen zentral-nervöser Art - nach ROCH als Pantherinasyndrom bezeichnet - bewirken, zählen: der

Fliegenpilz (*Amanita muscaria*) und

Pantherpilz (*Amanita pantherina*)

Der Fliegenpilz ist auf Grund seines auffälligen Äußeren und seiner seit langem bekannten Verwendung als Fliegen-tötungsmittel (SCHURZ (2)) der bekannteste Giftpilz, jedoch bei weitem nicht - wie früher angenommen - der gefährlichste. (Fliegenpilz als Rauschmittel s.S.18). RAMBSROTTOM 1953 und GRAVES 1958 glauben, daß er selbst roh genossen, bei gesunden Menschen niemals tödlich wirken könne. BUCK beobachtete 1962 zwei Personen, die große Mengen roher und gekochter Pilze zu sich nahmen und zwar gewisse Intoxikationssymptome zeigten, sich jedoch unmittelbar darauf wieder erholten. In manchen Ländern soll er auch ohne schädliche Auswirkungen gegessen werden, besonders nach Abziehen der Oberhaut. Diese Berichte erklären sich durch die bereits erwähnte verschiedene Toxizität ein und derselben Pilzart je nach äußeren Bedingungen, die gerade beim Fliegenpilz, bei dem mehrere entgegengesetzt wirkende Toxine vorhanden sind besonders deutlich wird. Nach HABERSAAT können sich je nach Anteil das Muscarin und der atropinartige Stoff in der Wirkung sogar aufheben.

Räumt man ein, daß viele Pilzvergiftungen früher ungerechterweise dem Fliegenpilz zugeschrieben wurden, so sind doch zweifellos typische Erkrankungsfälle durch *Amanita muscaria* nachgewiesen. Sein Ruf als Giftpilz muß weiterhin aufrechterhalten werden. Eine Entgiftung durch Abziehen der Oberhaut erfolgt nicht (GEBNER).

Vergiftungen sind verhältnismäßig selten, da er eigentlich

nur mit dem nicht allzu häufig wachsenden Kaiserling (*Amanita caesarea*) verwechselt werden kann, besonders wenn durch den Regen die als Warzen verbliebenen Reste der Hüllhaut abgewaschen wurden. Seine gelbe und braune Abart (*Amanita umbrina*) kann ein Unkundiger leicht mit dem Perlpilz (*Amanita rubescens*) verwechseln (TENNER, MANGEL).

Fliegenpilzvergiftungen in neuerer Zeit beschrieben
TENNER 1937, KLOR 1938, LENDLE 1942, LOHMANN 1947, MANGEL 1949, DONALIES und VOLZ 1960, ALDER 1961, MOESCHLIN 1964.

Sehr viel häufiger sind Intoxikationen durch den Pantherpilz (*Amanita pantherina*), über die außer den oben genannten Autoren noch STRAUS 1946, ARMBRUST und LEONHARD 1949, BRAUCH 1950, SCHÖFFLING und GROSSER 1955, WÜST und ARNOLD 1955 berichteten.

Er wird leicht mit dem Schirmpilz (*Macrolepiota procera*) und vor allem mit dem Perlpilz (*Amanita rubescens*) verwechselt. Zudem waren in führenden deutschen Pilzwerken (GRAMBERG 1913) Abbildungen enthalten, auf denen der eßbare gedrungene Wulstling (*Amanita spissa*) als Pantherpilz bezeichnet wurde. Ebenso führt auch hier die bis in unsere Zeit immer wieder propagierte Ansicht, die Pilze könnten durch Abziehen der Oberhaut entgiftet werden (MOENCH) zusammen mit dem wechselnden Toxingehalt zu einer Reihe von Vergiftungen (ARMBRUST und LEONHARD).

Wie alle Autoren betonen, kann man Fliegen- und Pantherpilzintoxikationen klinisch nicht unterscheiden, so daß ihre Symptomatik hier gemeinsam besprochen wird.

Vergiftungsbild:

Wenige Minuten, bis zu zwei, höchstens drei Stunden nach der Mahlzeit setzen - eventuell nach einem Prodromalstadium mit Müdigkeit, Taumel, Schwindel, Trübung des Sensoriums bis zur Bewußtlosigkeit (WÜST und ARNOLD) - deutliche Reizerscheinungen von Seiten des Zentralnervensystems ein. Diese äußern sich

neurologisch in spontanen Muskelzuckungen (Myoklonien) bis zu Krämpfen, choreatischer Hyperkinese mit ruckartigen Bewegungen bestimmter Körperabschnitte. Die Reflexe sind meist gesteigert, jedoch selten und nur passager pathologisch. Mydriasis wird nicht häufig beobachtet.

Auffällig sind die psychopathologischen Veränderungen, die LEONHARD 1949 ausführlich schildert.:

Die Patienten wirken verlangsamt, perseverieren bis zur Echolalie und Echopraxie. Die Stimmungslage schwankt von allgemeiner Gleichgültigkeit (viele Kranke gehen nicht zum Arzt, obwohl sie von der Vergiftung wissen), Gelöstheit, Euphorie zum "seligen Rausch und inneren Glückserlebnis". Dazu treten Veränderungen des Körperempfindens und Denkstörungen in Form von Konzentrationsunfähigkeit und Ideenflucht. Ofters werden allgemeine Verwirrtheit, psychomotorische Unruhe bis zu schweren Tobsuchtsanfällen und Delirien beschrieben. Echte Halluzinationen kommen selten vor, zuweilen aber Anomalien des Farbsehens und der Größenwahrnehmung.

Auf das oft stundenlang dauernde Erregungsstadium folgt ein narkoseähnliches Lähmungsstadium, dem nach tiefen Schlaf meist ein Erwachen in voller Klarheit folgt oder das in Einzelfällen zu tiefem Koma mit Versagen von Herz und Kreislauf und nach 15 - 24 Stunden zum Tode führt. Manchmal findet man nach der Genesung retrograde Amnesie oder eine Wochen anhaltende Minderung der geistigen Leistungsfähigkeit.

Der körperliche Befund ist meist spärlich. Es kann nach vorübergehendem Blutdruckanstieg zu Kollapszuständen kommen. KELLER beschreibt einen Fall mit Vorhofflattern und irregulärem Puls. LEONHARD erwähnt zweimal Zeichen einer Leberschädigung. BRAUCH weist auf ein bei Pantherpilzvergiftung nicht selten interferrierendes Tetaniesyndrom hin, das auch bei fehlendem Erbrechen auftritt.

Bisweilen lassen sich zusätzlich noch Zeichen einer Muscarinvergiftung nachweisen (TENNER, KLOR, LEONHARD u.a.)

Differentialdiagnose:

Alkoholrausch (LENDLE); Rauschzustände durch Haschisch, Opiate etc. (LEONHARD), besonders durch Meskalin (BERINGER); Atropinvergiftung; Psychosen.

Prognose:

Relativ gut. Meist erfolgt Genesung innerhalb von 12 - 24 Stunden. Die Letalität beträgt nach HABERSAAT 2 % beim Fliegenpilz und 10 % beim Pantherpilz, nach ALDER 1960 5,5 % bzw. 1,54 %. Diese Angaben erscheinen etwas zu hoch, da statistisch nur die schweren Fälle erfaßt werden. In den letzten Jahren wurden keine Todesfälle mehr berichtet. Im allgemeinen wird der Pantherpilz für giftiger gehalten als der Fliegenpilz.

Therapie:

allgemeine Behandlung: Hier ist besonders Wert auf eine rasche Entfernung der Giftstoffe aus dem Verdauungstrakt zu legen, da spontanes Erbrechen und Durchfälle oft fehlen. Am besten geschieht dies durch Apomorphin und Abführmittel. Eine Magenspülung ist bei starken Erregungszuständen kontraindiziert! Bei Kollaps Stimulantia, jedoch keine frequenzsteigernden Sympathicomimetica (HOMANN).

spezielle Behandlung: Kalziumglukonat bei tetanischen Symptomen; Sedierung durch Luminal (Phenobarbital) 0,2 g im. und Narkotika (ROCH). Atropin, das nur gegen die Muscarinsymptome wirkt, ist meist kontraindiziert!

Wirkungsmechanismus:

Fliegen- und Pantherpilz enthalten neben dem in geringer Menge vorkommenden Muscarin, dessen Wirkungsmechanismus im vorhergehenden Kapitel beschrieben wurde, ein heute noch unbekanntes Alkaloid von "atropinartiger Wirkung, das die Vergiftungsscheinungen zentral-nervöser Art hervorruft.

Der Anteil des vorherrschenden Toxins bestimmt die Gesamtwirkung. So soll nach KOBERT im Süden Europas mehr der "Muscarintyp" im Norden und Osten Europas mehr der "Atropintyp" der Vergiftung überwiegen.

Über den Angriffspunkt des sogenannten "Mycetoatropins" im Organismus können nur Vermutungen angestellt werden. Nach BUCK 1963 soll das Bufotenin im Fliegenpilz als zentral angreifende narkotische Substanz wirksam sein, was von TYLER jr. 1963 u.a. bezweifelt wird. Interessant ist jedoch in diesem Zusammenhang die Tatsache, das Bufotenin als Rauschgift benützt wird und nach Versuchen von FABING und HAWKINS Halluzinationen erzeugt. Angeblich soll es im Gehirn Schizophrener aus Serotonin gebildet werden.

3. Giftpilze mit überwiegender Wirkung auf die parenchymatösen Organe

Pilze, deren toxische Substanzen vor allem die parenchymatösen Organe schädigen und nach einer langen Latenzzeit schwere, oft infauste Vergiftungen hervorrufen, sind: der grüne Knollenblätterpilz (*Amanita phalloides*), weiße Knollenblätterpilz (*Amanita virosa*), Frühlingsknollenblätterpilz (*Amanita verna*) und die Lorchel (*Helvella esculenta*)

Weiterhin werden über den

Orangefuchsigigen Hautkopf (*Cortinarius orellanus* = *Dermocybe orellana* Fr.)

Fleischroten Schirmling (*Lepiota helveola* Bresadola) und

Grünblättrigen Schwefelkopf (*Hypholoma fasciculare* = *Nematoloma fasciculare*)

berichtet.

a) Knollenblätterpilze

Durch den grünen und weißen Knollenblätterpilz (*Amanita phalloides* und *Amanita virosa*) und seine Abart, den Frühlings-

knollenblätterpilz (*Amanita verna*) werden über 90 % aller tödlichen Pilzvergiftungen verursacht (ALDER u.a.).

Sein Anteil an den gesamten Pilzintoxikationen beträgt etwa 15 %. Er ist der gefährlichste Giftpilz und wird in der anglo-amerikanischen Literatur als "killer-mushroom" (KOWALSKI) oder "destroying angel" (BLOCK et al.) bezeichnet. Seine Giftigkeit bleibt von äusseren Bedingungen, wie Standort und Klima, unbeeinflusst (GEBNER). Anderslautende Berichte sind wahrscheinlich auf die Verwechslung mit dem gelben Knollenblätterpilz (*Amanita mappa* Batsch) zurückzuführen. (s.a.S. 61)

Seine Toxizität nimmt auch durch Kochen, Trocknen und andere "Entgiftungsmechanismen" nicht ab.

Ein Knollenblätterpilz (15 - 30 g) genügt, um einen Menschen tödlich zu vergiften (LEHMANN). Besonders gefährdet sind Personen mit vorgeschädigter Leber (Alkoholiker) und Kinder. (MOESCHLIN, ALDER 1961, SCHÖFFLING und GROSSER). Nach Th. WIELAND und K.DOSE 1954 steht die Intensität des Stoffwechsels in direktem Zusammenhang mit der Anfälligkeit gegenüber dem Gift. Am häufigsten wird der Knollenblätterpilz mit den Champignons (*Agaricus campestris* sive *arvensis*), aber auch mit den Grünlingen (*Tricholoma equestre*) und grüngefärbten Täublingen verwechselt. Er ist im Geruch und Geschmack völlig unauffällig.

Die meisten Berichte in der einschlägigen Literatur liegen über Vergiftungen durch *Amanita phalloides* vor. In den letzten Jahren beschrieben u.v.a. PROBOESE, KRAUSE 1947, REITER und BORCHERS 1948, SCHÖFFLING und GROSSER 1955, GRUNER und PETZEL 1958, GRABENER, JAROSCH und STITZ, RASZEJA 1959, WEINER 1960, ALDER, MICHON et al. 1961, LUDWIG 1962, LEHMANN, ABUL HAY et al. 1963, SCHMID et al. 1964, derartige Intoxikationen.

Wie aus all diesen und der Vielzahl der früher herausgebrachten Veröffentlichungen zu ersehen ist, zeigt dieses Vergiftungsbild eine vielgestaltige Symptomatik. Trotzdem kann man - wenn auch mit verschiedenen Modifikationen - einen charakteristischen, meist biphasischen Verlauf (ALDER 1961, LUDWIG, MOESCHLIN) herausstellen.

Vergiftungsbild:

Nach MOESCHLIN ist für dieses Vergiftungsbild neben dem in den ersten Tagen völlig ungetrübtem Sensorium der lange Zeitraum von 6 - 12 - 24, in Einzelfällen bis zu 48 Stunden zwischen der Pilzaufnahme und dem Einsetzen der ersten Symptome pathognomonisch.

Erste Phase:

Nach der völlig beschwerdefreien Latenz treten schlagartig meist heftige gastroenteritische Erscheinungen auf, wie unstillbares Erbrechen und profuse Durchfälle, verbunden mit quälenden Tenesmen. Die Stuhlbeschaffenheit wird später "reiswasserähnlich", zuweilen mit blutigen Beimengungen. Dieses "choleraartige" Bild (HEGI) führte früher manchmal zu Verwechslungen. Durch die damit verbundene Wasser- (nach ROCH bis zu 4 l pro Tag) und Elektrolytverarmung kommt es zu Oligurie, hypochlorämischer Urämie und Bluteindickung. Die Exsikkose = hypovolämischer Schock verursacht, nach manchen Autoren (SCHÖFFLING und GROSSER u.a.) zusammen mit einer direkten toxischen Schädigung des Vasomotorenzentrums und des Herzmuskels einen schweren Kreislaufzusammenbruch mit Kollapstemperatur, Cyanose und fadenförmigem Puls. Im Elektrokardiogramm zeigen sich die für eine Hypokaliämie typischen Veränderungen der "energetisch dynamischen Herzinsuffizienz" (HEGGLIN). HYMANN macht auf schenkelblockartige Bilder aufmerksam. Dieses gastroenteritische Stadium dauert meist 3 - 5 Tage, nach SCHÖFFLING und GROSSER bis zu einer Woche.

Bei leichteren Fällen sistieren diese Erscheinungen oft schon nach 2 Tagen, und es folgt - eventuell nach einer leichten vorübergehenden Leberschädigung - die Genesung.

Zweite Phase:

Schwerer Erkrankte sterben entweder bereits in den ersten Tagen, oder es manifestiert sich nach einer trügerischen Remission im allgemeinen am 3. - 5. Tag die zweite Phase der schweren Schädigung der parenchymatösen Organe.

Klinisch zeigen sich druckschmerzhaft Leberschwellung, in 20-30% Ikterus (ALDER 1961), mit allen biochemischen Zeichen einer ausgeprägten Leberschädigung (s.u.).

Innerhalb kurzer Zeit kann sich das Bild einer akuten Leberdystrophie mit hämorrhagischer Diathese und Bewußtseinstörung ausbilden, der der Patient meist am 4.-7.Tag in 50 % dieser Fälle im Leberkoma erliegt.

Eine direkte toxische Beeinträchtigung der Nierenfunktion, unabhängig von der bereits erwähnten durch Dehydratation und Hypochlorämie bedingten Urämie, läßt sich im zweiten Stadium nachweisen. Eine akute Nephrose (MOESCHLIN, MICHON et al.), die sich biopsisch als herdförmige, interstitielle Nephritis erwies (BOCK et al. (1) 1964), stellt sich bei etwa einem Viertel der Patienten ein.

Zentral-nervöse Störungen werden relativ wenig erwähnt.

TREUPEL und REHORN berichten über psychische Veränderungen und Halluzinationen, HELBIG über "ängstliches Gespanntsein" bis zu Halluzinosen. Meist findet man im Endstadium Trismus, Opisthotonus, Krämpfe, Bewußtlosigkeit und Delirien, was man auf die schwere Leberinsuffizienz zurückführt. (SCHÜRER). Es werden jedoch auch bei leichteren Fällen, die nicht zum Vollbild des hepatischen Komas führten, neurologische Ausfälle, pathologisches Reflexverhalten und Veränderungen im Elektroencephalogramm beschrieben (BOCK et al. (1) 1964). Im anglo-amerikanischen Schrifttum werden die cerebralen Symptome zuweilen als so sehr im Vordergrund stehend bezeichnet, daß sie zu erheblichen differentialdiagnostischen

Schwierigkeiten führen (ABUL HAY et al.). MARCOVITS und ALPERS erörtern bei schweren Fällen die Möglichkeit einer primären, toxischen, nicht eitrigen Encephalitis, begleitet, jedoch nicht verursacht, von toxisch - degenerativen Prozessen der Glia und Nervenzellen.

Pathologische Befunde in Blut und Harn:

hämatologische Befunde:

Zu Beginn der Vergiftung steigen infolge der schweren Dehydratation Hämoglobingehalt, Erythrocyten- und Leukocytenzahl deutlich an (BOCK et al. (1) 1964). Nach JAGIC und LIPINER, die als erste über das Verhalten des peripheren Blutbildes berichteten, wich die Leukocytose nach 7 - 8 Tagen Normalwerten. Ebenso wie BLANK beobachteten sie bei den letalen Fällen einen Leukocytensturz mit Fehlen der Eosinophilen kurz vor dem Exitus.

Eine lange andauernde hypoplastische Anämie durch direkte toxische Schädigung des Knochenmarks wurde von REITER und BORCHERS beschrieben.

Die Prothrombinwerte können auf 10 - 0 % abfallen. (MOESCHLIN).

Blutchemie:

Biochemische Befunde im Blut von Kranken mit Knollenblätterpilzvergiftung wurden von BOCK et al. (2) 1964 berichtet: Das Gesamteiweiß im Serum ist zu Beginn der Intoxikation entsprechend der Hämokonzentration erhöht.

Die Serumelektrolyte, besonders Kalium und Chlor, sind oft vermindert. Bei der Mehrzahl der Erkrankten kommt es vor allem durch die Leberstoffwechselstörung zu einer metabolischen Acidose. Auf diese führt BOCK die bei allen seinen schweren Fällen beobachtete Glutathioninstabilität mit Abfall des Glutathions zurück. Nur bei zwei Patientinnen war dies durch einen hereditären Glutathionreduktasemangel bedingt, der, da er in heterozygoter Form vorlag, sich

erst durch die Einwirkung der Toxine manifestierte (WALLER et al.). Infolge der hypochlorämischen Urämie steigen die harnpflichtigen Substanzen (Harnstoff, Kreatinin) zu Beginn der Erkrankung an. Am 4. - 6. Tag kommt es im Verlauf der oben erwähnten toxischen Nierenschädigung eventuell erneut zu einer Erhöhung der Retentionswerte im Serum. Als Ausdruck der Leberschädigung zeigt sich immer, auch ohne Auftreten eines Ikterus, eine Enzymaktivitätszunahme im Serum, welche sich spätestens vom 2. Tag an als empfindlichster Indikator für die Pilzintoxikation erweist (siehe SCHMID et al.). Sie geht der Erhöhung des Bilirubins voraus. Serum-Glutamat-Oxalat-Transaminase (SGOT) und Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT) - Aktivitäten steigen bis zum 200-fachen Normalwert an. Die Verlaufskontrollen ließen bei BOCK (2) 1964 ein "zweiphasisches Geschehen" erkennen. Die GOT-Aktivität stieg in allen Fällen früher und zunächst stärker an als die GPT-Aktivität. Erst vom 2. - 4. Tag nach Pilzeinnahme an war ein Überwiegen der GPT-Aktivität, d.h. die für eine Leberparenchymschädigung typische Umkehr des De Ritis-Quotienten (GOT/GPT unter 1) nachweisbar. Daß die Serumfermente überwiegend den Leberzellen entstammen, geht aus den hohen Werten der organspezifischen Sorbitdehydrase (SDH) und der Differenzierung der Laktatdehydrase (LDH) hervor (SCHMID et al.). Im Gegensatz zu dem von BINET et al. mitgeteilten "Anstieg der Serumlipide" beobachtete BOCK einen Cholesterinabfall. Eventuell haben erstgenannte Autoren die zu Beginn der Vergiftung auftretende Hämokonzentration außer Acht gelassen. Bei der Aminosäureanalyse ergab sich eine Verminderung der Argininkonzentration im Serum. Dieser Befund kann vielleicht differentialdiagnostisch verwertet werden, da bei Hepatitis, Cirrhose und Leberdystrophie nach GEROK die Argininkonzentration normal oder erhöht ist. Der Blutzucker

steigt am Anfang der Intoxikation meist an (STEINBRINCK und MUNCH u.a.), um im weiteren Verlauf auf tiefe hypoglykämische Werte abzusinken (BINET und MAREK, COVA u.a.).

Urinstatus:

Entsprechend der Hyperglykämie findet man in den ersten Tagen häufig Glykosurie (STEINBRINCK und MUNCH).

Als Ausdruck der Leberschädigung treten im Harn Gallenfarbstoffe auf (SCHÜRER).

Im Sediment erscheinen Leukocyten, Erythrocyten und Zylinder (BLANK, MOESCHLIN).

Pathologische Anatomie:

Die Sektionsbefunde bei der Knollenblätterpilzvergiftung zeigen eine bemerkenswerte Übereinstimmung. Die in der reichhaltigen Literatur beschriebenen Unterschiede lassen sich aus der verschiedenen langen Überlebenszeit der Verstorbenen und eventuell auch aus einer "postmortalen Lipophanerose" erklären, die z.B. in der Leber, wo durch Einwirkung der Toxine gewisse Fermente freigesetzt werden, das Bild rasch verändert. (RASZEJA 1960). Besonders zur Beurteilung der histologischen Veränderungen ist daher möglichst schnelle Entnahme und Fixierung des Sektionsmaterials erforderlich.

Im Mittelpunkt der pathologisch-anatomischen Veränderungen steht immer die ausgeprägte fettige Parenchymzerstörung der Leber. (FROBOESE, FAZEKAS, JACOBOWITS u.v.a.)

Bei den in den ersten Tagen nach Krankheitsbeginn verstorbenen Patienten unterscheidet sich diese meist hell-buttergelbe (nicht ikterisch-gelbe) Leberdegeneration und -nekrose durch die fehlende Volumenverminderung und die eher etwas steife, zuweilen brüchige Konsistenz des Organs von der "akuten gelben Leberatrophie", die nach dem heutigen Sprachgebrauch besser "akute gelbe toxische Leberparenchymnekrose" genannt wird. Ein sehr häufiger Befund sind kleine und größere Blutaustritte, sowohl im Innern der Leber, als auch unter der Kapsel. Histologisch beherrscht eine völlig diffuse fein- bis mittel- bis auch großtropfige Verfettung mit Zellzerfall das Bild.

Letzterer wird in den Zentren der Acini am frühesten sichtbar. RASZEJA wies 1960 auf den differentialdiagnostisch wichtigen Befund einer "charakteristischen Dreizonenanordnung" der degenerativen Leberverfettung in den Läppchen hin: grobkörnige Verfettung der Übergangszone, feinkörnige Verfettung im Zentrum und in der Randzone. Auch er stellte wie FROBOESE, FAZEKAS und JACOBOWITS u.a. ein Vorherrschen der Zellnekrose besonders in den Zentren mit einem vollständigen Chaos der Balkenstruktur fest. Diese Veränderungen treten vor allem bei einem Tod 3 - 5 Tage nach Beginn der Vergiftung, jedoch auch schon früher auf.

Bei längerer Überlebensdauer wird die Leber durch den einsetzenden Abtransport des fettig- zerfallenen Gewebsmaterials schlaff, kleiner und gleicht nun immer mehr dem Bild der sogenannten "akuten gelben Leberatrophie".

In der Reihenfolge nach dem Grad ihrer Veränderungen sind noch folgende Organe von diffuser Verfettung, toxischer Degeneration in Richtung der Nekrobiose bis zur vollen Nekrose (sichtbar u.a. am Verlust der Kernfärbbarkeit) und diversen Blutaustritten betroffen: Niere, Herz und Skelettmuskulatur. Gerade in der Mitbeteiligung der quergestreiften Muskulatur sah FRAENKEL ein wichtiges differentialdiagnostisches Merkmal gegenüber der Phosphorvergiftung und der akuten Leberdystrophie. Als ebenfalls beinahe regelmäßiger Befund werden punktförmige und flächenhafte Blutungen in den serösen Häuten und dem Fettgewebe der Haut und des Gekröses beschrieben. Des öfteren werden Hirnödeme (SCHNYDER) und Hirnschwellung (ABUL HAY et al.), punktförmige Blutungen, perivaskuläre Infiltrate, toxische Degeneration der Ganglienzellen vor allem in der Rinde und fettige Infiltration aller Zellen des Gehirns gefunden (MARCOVITZ und ALPERS).

Im Verdauungstrakt, einschließlich der unteren Speiseröhre, zeigen sich Zeichen einer heftigen Reizung, wie Schwellung

des lymphatischen Apparates im Darm (Peyersche Haufen), flächenhafte Blutungen der Schleimhäute und starke entzündliche Veränderungen (LAUX).

Einen gänzlichen Mangel der Totenstarre, auf den HANSEN als beständigen pathologisch-anatomischen Befund hinweist, konnte FROBOESE nicht bestätigen.

Differentialdiagnose:

akute Gastroenteritis (Paratyphus, Cholera ...); akute Leberdystrophie infolge Hepatitis epidemica; Vergiftung durch andere starke Lebergifte (Phosphor, Arsenik, Tetrachlorkohlenstoff, Filix mas, Chlorkörm ...); Lorchelvergiftung gegenüber dem Frühlingsknollenblätterpilz.

Prognose:

Durch den ausgedehnten Zeitraum zwischen Pilzgenuss und dem Einsetzen der ersten klinischen Symptome mit spontaner Entfernung der Giftstoffe bzw. der Möglichkeit therapeutischer Eingriffe ist die Hauptmenge des Giftes bereits vom Körper resorbiert und übt seine zerstörende Wirkung im Organismus aus. Trotzdem kann die von BERNHARD-KREIS, COVA und VIOLA, DUBASH und TEARE, ROCH, SCHÖFFLING und GROSSER, GRUNER und PETZEL vertretene Ansicht, je länger die Latenzzeit, desto ungünstiger die Prognose von BOCK et al. (1) 1964 u.a. nicht bestätigt werden.

Nach MOESCHLIN ist ein starker Abfall der Prothrombinwerte als prognostisch ungünstigeres Zeichen zu werten als ein hoher Anstieg der Transaminaseaktivitäten.

Auf die rasch einsetzende, energische Therapie führt BINDER ein Absinken der Letalität in den letzten Jahren von 50 - 60 % (ROCH, WICKI) - 75 % (WOLKHARDT et al.) auf 30 % zurück.

Mehrere verspeiste Knollenblätterpilze führen trotz aller therapeutischer Maßnahmen fast immer zum Tode (MOESCHLIN).

Wird die Erkrankung überstanden, so ist die Spätprognose

gut, selbst wenn Zeichen einer schwersten Leberschädigung vorhanden waren. Bei Kontrolluntersuchungen 8 - 60 Monate nach der Intoxikation (LEHMANN) zeigten nur 2 von 9 Patienten bei subjektivem Wohlbefinden einzelne Abweichungen der normalen Leberteste, deren kausaler Zusammenhang mit der Vergiftung jedoch unwahrscheinlich oder zumindest fraglich war. Eine postnekrotische Cirrhose ist nicht zu erwarten.

Therapie:

Eine sicher wirksame kausale Therapie der Amanita phalloides - Vergiftung existiert bis heute nicht. Deshalb wird eine große Anzahl therapeutischer Möglichkeiten vorgeschlagen, von denen jede einzelne mehr oder minder umstritten ist, und denen von den verschiedenen Autoren in wechselndem Maße Erfolge und Mißerfolge zugeschrieben werden, die sich bei dem nie vorauszusehenden Verlauf dieses Vergiftungsbildes schwer objektivieren lassen. Es würde hier zu weit führen, auf das Für und Wider jedes einzelnen Punktes einzugehen und die unterschiedlichen Meinungen zu erörtern. Fest steht, daß eine frühzeitige intensive Behandlung trotz der Gefahr der Polypragmasie gerechtfertigt erscheint.

Hier seien nach MOESCHLIN, WEINER u.a. die wichtigsten Behandlungsmaßnahmen zusammengestellt.

allgemeine Behandlung:

Trotz der bereits eingetretenen Resorption der Hauptmenge des Giftes befürworten die meisten Autoren eine Magenspülung. Sie ist jedoch, ebenso wie die Gabe von Abführmitteln, als zusätzliche Belastung für den oft schwerst kollabierten Kranken eher kontraindiziert (MOESCHLIN, ROCH), wenn Erbrechen und Durchfälle bereits länger bestanden haben.

Sehr wichtig ist die Bekämpfung der Dehydratation und des

Elektrolytverlustes durch Infusionen und Gabe von Kalium.
Zur Stützung des Kreislaufs gibt man Stimulantia wie
Depot-Novadral, Cardiazol, Eukraton (GRUNER und PETZEL) etc..

spezielle Behandlung:

Serum antiphalloidien:

DUJARRIC de la RIVIÈRE behandelte Pferde mit ansteigenden Dosen von Glycerinwasserextrakten, die er aus verschiedenen Arten des Knollenblätterpilzes gewann und erhielt ein antitoxisches Serum, das Kaninchen gegen die vier- bis fünffache tödliche Dosis schützen konnte. Das Institut Pasteur stellt dieses Serum als "Serum antiphalloidien" her. Wie aber bereits SCHLOEBERGER und MENK feststellten, wirkt das Serum nur gegen den nativen Pilzextrakt. Keinerlei Einfluß hat es auf den Verlauf einer Vergiftung durch den erhitzten Extrakt oder durch die chemisch reinen kristallinen Toxine, wie O.WIELAND und F. MATSCHINSKY 1963 durch Versuche an Mäusen feststellten.

Da die Pilze meist in gekochtem Zustand aufgenommen werden dürfte die Wirkung des Serums, die sich vor allem gegen das thermolabile Hämolysin richtet, ohne großen Nutzen sein. Dennoch empfehlen die meisten Autoren seine Anwendung in hohen Dosen (ROCH, KISTLER und SCHMID, WEINER, MOESCHLIN u.a.). Wichtig ist hierbei jedoch eine möglichst frühzeitige Einsetzung des Mittels, da es auf jeden Fall nur die frei im Blut kreisenden, noch nicht in die Zellen resorbierten Toxine neutralisiert.

Limousin'sche Behandlung:

Bewogen durch die Beobachtung, daß sich Kaninchen bei peroraler Applikation des Giftes sehr resistent zeigten, empfahl LIMOUSIN die Verabreichung von sieben gewiegten, rohen Kaninchenhirnen und drei vom Inhalt befreiten, nicht gewaschenen Kaninchenmäzen. Diese Methode wird heute neben der Anwendung von Tierkohle als unspezifische

Adsorptionstherapie durch Bindung der Giftstoffe an die Lipide günstig beurteilt (MOESCHLIN, ROCH u.a.).

Wegen des häufigen schweren Erbrechens soll die Verabreichung am besten unmittelbar nach der Magenspülung, wo öfters eine Beruhigung der Brechattacken eintritt, bzw. durch eine Sonde erfolgen.

Leberschutztherapie:

Die wichtigste Maßnahme der speziellen Behandlung ist zweifellos eine energisch durchgeführte Leberschutztherapie.

Diese besteht in:

Genügender Zufuhr von Lävulose (STEINBRINCK und MÜNCH u.a.), auch wegen der ausgeprägten Hypoglykämie; Anwendung hepatotroper Substanzen wie Cholin, welches nach MEUSEL und ORZECOWSKI der Umladung der Grenzflächen der geschädigten Leberzellen entgegenzuwirken vermag, Panthotensäure, Hepatissan und ähnl. (GRUNER und PETZEL); Gabe von Glutaminsäure und Arginin (BOCK et al. (1)), Vitaminen (B,C,K), bei hämorrhagischer Diathese zusätzlich Hämostyptica oder Transfusionen;

Hydrocortisonpräparate: Obwohl auch hierbei O.WIELAND et al. 1952 u.a. in Tierexperimenten keinerlei Abschwächung oder Verzögerung des Vergiftungsbildes sahen, berichten FIEGEL und KELLING, GRUNER und PETZEL, WEINER, MOESCHLIN u.a. über günstige Ergebnisse bei der Anwendung von Corticosteroiden und -Derivaten, die ja außer gegen die Leberschädigung auch gegen den Schock und eine Nephrose wirksam sind. Bei beginnendem Leberkoma gibt man zusätzlich Antibiotica, wie Neomycin, um durch Sterilisation des Darminhaltes die Ammoniakproduktion zu unterbinden und dadurch einer Ammoniakvergiftung vorzubeugen. Im übrigen dürfte eine entsprechende Diät und strengste Bettruhe (TREUPEL und REHORN), um eine unnötige Belastung der Leber durch die Produkte eines erhöhten

Eiweißabbaus zu vermeiden, wohl selbstverständlich sein.

Hämodialyse:

ELLIOT et al. empfehlen bei der Knollenblätterpilzvergiftung die Anwendung der Hämodialyse. Diese Maßnahme kann bei der toxischen Schädigung der Nierenfunktion lebensrettend wirken. Eine Eliminierung der Giftstoffe ist dadurch jedoch wegen ihres Molekulargewichtes unwahrscheinlich.

Wirkungsmechanismus:

Die wirksamen Toxine Phalloidin, Phalloin, Phallacidin, α -, β - und γ -Amanitin sind nicht durch Peptidasen spaltbar und werden daher unverändert durch den Magen- Darmtrakt resorbiert.

Das Vergiftungsbild wird wahrscheinlich durch das α -Amanitin bestimmt, welches 20 x toxischer (für den Menschen $DL_{50} = 0,1 \text{ mg/kg}$ nach Th. und O. WIELAND 1959), aber 20 x langsamer wirkt als das Phalloidin.

Um den Wirkungsmechanismus des Giftes aufzuklären, wurden viele Tierversuche mit den ganzen Pilzen, mit alkoholischen Pilzextrakten (zusammenfassende Darstellung bis 1941 s. NEUHANN) und später mit den gereinigten Toxinen Phalloidin und α -Amanitin (VOGT 1938, O. WIELAND et al. 1952, Th. WIELAND und K. DOSE 1954 und 1956, Th. und O. WIELAND 1959 u.v.a.) angestellt. Die dabei erzielten Ergebnisse kann man nun nicht einfach auf den Menschen übertragen. Innerhalb der einzelnen Arten der Säugetiere und in noch höherem Maße zwischen diesen und den poikilothermen Tieren bestehen erhebliche Schwankungen in der Empfindlichkeit bzw. Resistenz gegenüber den Toxinen von Amanita phalloides (Th. WIELAND 1957). Die, besonders bei Verwendung der reinen Toxine, hervorgerufenen tödlichen Vergiftungen zeigten jedoch bei allen Versuchen im Prinzip ähnliche Bilder, die mit den beim

Menschen erhobenen klinischen und pathologisch-anatomischen Befunden übereinstimmen.

Es erscheint als sicher, daß die Leber den Prädispositions-ort der Vergiftung darstellt. Sie verliert ihre Fähigkeit, Glykogen zu synthetisieren, auch wenn durch orale oder parenterale Zuführung Glucose zur Verfügung steht. (O. WIELAND et al. 1952). Die Dissimilation der endogenen Kohlehydrate ist nicht gestört. In der glykogenverarmten Leber zeigt sich innerhalb von Stunden, hervorgerufen durch die unmittelbare Schädigung des Zytoplasmas der Leberepithelien durch die Toxine mit starker Hemmung der Fettverbrennung und gesteigertem Antransport aus den Fettdepots, eine toxische Leberverfettung (BUCHNER) als sekundärer Prozeß.

Um einer Klärung der Frage nach dem primären Angriffspunkt des Giftes innerhalb dieses Organs näherzukommen, beobachteten MATSCHINSKY et al. 1960 in Durchströmungsversuchen die Wirkung des Phalloidins an der isolierten Rattenleber. Die aufgetretenen Veränderungen unterschieden sich weder histologisch noch biochemisch vom Zustandsbild des vergifteten Ganztieres. Eine vorausgehende Körperpassage scheint für die Toxizität demnach nicht erforderlich zu sein. Als erstes Symptom der Vergiftung fand man ein unmittelbares Versiegen der Gallensekretion, dann folgen in zeitlicher Reihenfolge histologische Degenerationserscheinungen, Abfall von ATP (Adenosintriphosphat), Glutathion (Th. WIELAND und K. DOSE 1956) und - wie schon länger bekannt - Leberglykogen. Die Toxine greifen entscheidend in den gesamten Kohlehydrat-, Fett- und Eiweißstoffwechsel ein. Sie unterbinden die synthetischen energieverbrauchenden Leistungen des Organismus. Aller Wahrscheinlichkeit nach wirken sie jedoch nicht direkt auf die Enzyme, z.B. durch eine Störung im ADP-ATP-Haushalt infolge einer Hemmung der Atmungskettenphosphorylierung (HESS) oder Aktivierung ATP-spaltender Vorgänge, sondern greifen

primär in noch unbekannter Weise an den Strukturelementen der Leber (Zellgrenzflächen) an (MATSCHINSKY und O.WIELAND 1960). Dort lösen sie eine Kette von enzymatischen Spaltungsreaktionen aus, die sekundär zur Zerstörung der Leberzellen und zum Tode führt.

Französische und italienische Autoren schreiben einem Hyperinsulinismus eine entscheidende Rolle bei der Vergiftung zu (J.VERNE et al.), den COVA durch eine Hemmung der Insulinase in der Leber erklärt.

b) Lorchel (Helvella esculenta)

Als zweiter Pilz dieser Gruppe, der bereits oft ernste, ja tödliche Intoxikationen hervorgerufen hat, ist die Frühjahrsorchel (*Helvella esculenta*) zu nennen. Sie wird häufig auch gemeinhin zusammen mit ihren nahen, jedoch ungefährlichen Verwandten *Morchella esculenta* als "Morchel" bezeichnet, was zusammen mit der Tatsache, daß sie im Frühjahr wächst, wo andere Pilze noch kaum zu bekommen sind, des öfteren zu Vergiftungen geführt hat.

So sind darüber Berichte in der Literatur besonders in Deutschland, wo sie vor allem im Norden und Nordosten zu finden ist, nicht selten.

Die Mehrzahl dieser "Unglücksfälle" entsteht dadurch, daß die Lorchel falsch zubereitet, d.h. nicht sachgemäß "entgiftet" wird. Dies geschieht durch Kochen der Pilze während mindestens 3 Minuten mit anschließender sorgfältiger Entfernung des Kochwassers am besten durch nochmaliges Aufkochen in frischem Wasser (LESCHKE) oder durch Trocknen von ein bis zwei Wochen (BOSTROEM). Die wirksamen Bestandteile von *Helvella esculenta* gehen offenbar ins Kochwasser über, so wurden insbesondere schwere Vergiftungen durch den Genuß von daraus bereiteten Suppen beschrieben (GUTZEIT, BERNSTEIN, UMBER, STAHR). Durch Trocknen werden die giftigen Bestandteile zerstört.

Auffällig ist, daß sich gerade die Berichte über Lorchelvergiftungen in bestimmten Jahren stark häufen - so ereigneten sich z.B. 1930 in Deutschland 42 Lorchelintoxikationen mit 25 Todesfällen (WASICKY). Dies läßt darauf schließen, daß die Giftigkeit der Lorchel starken Schwankungen unterworfen ist (LANDE u.a.).

Zweifellos sind auch Fälle von Vergiftungen bekannt, bei denen die Pilze einwandfrei zubereitet wurden (KOCHMANN, NEUBURGER, ALDER 1961). Außerdem ist vor einem mehrmaligen Genuß der Lorcheln in kurzen Zeitabständen zu warnen (STAHR), da sich kleine Giftmengen eventuell kumulieren können.

Vergiftungsbild:

Das Vergiftungsbild ähnelt so sehr dem bei der Knollenblätterpilzvergiftung beschriebenen, daß es hier nicht noch einmal zu wiederholen braucht.

Auch hier kommt es nach einer Latenzzeit von 5-10, in seltenen Fällen 24 Stunden meist zu einer heftig einsetzenden Gastroenteritis mit starkem Erbrechen. Durchfälle können öfters fehlen. In leichteren Fällen genesen die Patienten nach diesem Stadium, in schweren sterben sie entweder am Kreislaufkollaps oder geraten in das zweite, hepatotoxische Stadium mit Ikterus aller Schweregrade bis zum Koma hepaticum. Hierbei stehen anscheinend die cerebralen Symptome sehr im Vordergrund (GUTZEIT). Im Gegensatz zu den Beobachtungen bei Tierversuchen wurden beim Menschen nur zweimal Fälle von Hämolyse (HINRICHS) bzw. Hämoglobinurie (LYON) beschrieben.

Pathologische Anatomie:

Auch die Sektionsbefunde gleichen ganz den bei der Vergiftung durch *Amanita phalloides* erhobenen. Auf die Ähnlichkeit mit der "akuten gelben Leberatrophy" wies zum ersten Mal UMBER hin. Außerdem findet man häufiger Zeichen einer Hämosiderose der Nieren.

Differentialdiagnose:

siehe Knollenblätterpilz

Prognose:

günstiger als bei der Knollenblätterpilzvergiftung. Nach ALDER 1961 beträgt die Letalität etwa 2-4%.

Therapie:

Die Behandlung entspricht der Therapie bei der Knollenblätterpilzvergiftung. Serum "antiphalloidien" und Limousin'sche Behandlung finden hierbei keine Anwendung.

Wirkungsmechanismus:

Lange Zeit schrieb man der in der Lorchel enthaltenen Helvellasäure, die im Tierversuch Hämolyse erzeugt, alle bei einer Vergiftung beobachteten Wirkungen zu. Da man jedoch immer mehr erkannte, daß der Pilz beim Menschen nur einen gering ausgeprägten hämolytischen Effekt zeigt (STUHLFAUT und JUNG) und andererseits bei schweren Vergiftungen klinisch und pathologisch anatomisch das Bild einer deutlichen Parenchymschädigung im Vordergrund steht, nimmt man zudem noch ein unbekanntes amanitinähnliches Zellgift an, das sich von den Toxinen des Knollenblätterpilzes durch seine im allgemeinen weniger drastische physiologische Wirkung unterscheidet.

c) Orangefuchsigiger Hautkopf (Cortinarius orellanus-Dermocybe orellana Fr.)

Erst in neuester Zeit erbrachte GRZYMALA die Beweise für die von ihm entdeckten giftigen Eigenschaften des lange für essbar gehaltenen orangefuchsigigen Hautkopfes. Er berichtete über insgesamt 132 Fälle in den Jahren 1952, 1955 und 1957, von denen 19 letal ausgingen. Dieser Pilz wächst nach BOTTICHER vereinzelt auch in Deutschland, doch sind bisher nur in Polen Vergiftungen bekannt geworden. Vielleicht denkt man jedoch wegen der langen Inkubationszeit bei Erkrankungen durch diese Pilzart nicht an eine Pilzvergiftung.

Vergiftungsbild: (Orellana-Syndrom):

Bei den von GRZYMALA beschriebenen Erkrankungen kam es nach einer für Vergiftungen extrem langen Latenzzeit von 2-4-8-17 Tagen bei selten vorhandenen gastrointestinalen Erscheinungen, wie Diarrhoe, Obstipation und Erbrechen, meist zu den Symptomen einer mehr oder weniger starken Nierenschädigung: Bei den leichteren Fällen (17) in Form von Durst, Trockenheit, Polyurie und Hypostenurie. In mittelschweren Fällen (75) traten Kopf- und Kreuzschmerzen, erhöhte Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, starke Leukocytose und Linksverschiebung hinzu.

Die Patienten genasen meist in der zweiten bis dritten Krankheitswoche. Die Rekonvaleszens zieht sich häufig Monate hin. Manchmal ließen sich noch nach eineinhalb Jahren subjektive Beschwerden und Zeichen einer Niereninsuffizienz in Form von Hypostenurie und Polyurie feststellen.

Bei 40 Erkrankten zeigten sich Symptome einer schweren Nierenschädigung, nämlich Albuminurie, Hypostenurie, Oligurie bis zur Anurie und Urämie. Die Harnstoffretention im Blut erreichte Werte von 500 - 780 mg%.

Zuweilen gesellten sich Anzeichen einer mehr oder minder ausgeprägten Leberschädigung hinzu.

Der Tod erfolgte meist in der zweiten bis dritten Krankheitswoche (in extremen Fällen 4. - 161. Tag).

Pathologische Anatomie:

Pathologisch-anatomisch ergaben sich immer schwere Nierenveränderungen im Sinne einer Nephrose, akuten interstiellen Nephritis oder einer chronischen Nephritis interstitialis fibrosa bzw. Fibrosis interstitialis renum, dazu Veränderungen der Leber und Ekchymosen in Gehirn, Magen- und Darmschleimhaut.

Differentialdiagnose:

Nierenerkrankungen; Vergiftungen durch nephrotoxische Substanzen (s.B. Sublimat, Quecksilber, Phenacetin etc.)

Prognose:

Bei schweren Vergiftungen ernst. Nach GRZYMALA betrug die Letalität rund 15 %.

Therapie:

Eine kausale Behandlung kommt hier wegen der langen Inkubationszeit in allen Fällen sicher zu spät, die symptomatische entspricht der Behandlung einer Niereninsuffizienz.

Wirkungsmechanismus:

Wie sich aus dem klinischen Bild, den Sektionsbefunden und den an Tieren durchgeführten Versuchen ergab, enthält der orangefuchsig Hautkopf in frischem, getrocknetem und gekochtem Zustand ein oder mehrere noch unbekannte Toxine, welche auf noch unbekannte Weise in erster Linie die parenchymatösen Organe, hauptsächlich die Nieren beeinträchtigen. Auch eine Schädigung der Endothelien der Blutgefäße ist anzunehmen.

Zum Schluß seien noch zwei Pilze erwähnt, über deren Giftwirkung sich widersprechende Arbeiten veröffentlicht wurden, sodaß ein endgültiges Urteil noch nicht möglich ist.

d) Fleischroter Schirmling (*Lepiota helveola* Bresadola)

Über eine Vergiftung mit dem fleischroten Schirmling liegt eine Mitteilung von BOTH 1938 vor.

Danach treten einige Stunden nach Pilzgenuß klinische Erscheinungen auf, die eine gefäßlähmende und hepatotoxische Substanz vermuten lassen. In zwei von drei Fällen erfolgte der Tod nach 54 bzw. 85 Stunden.

Sektionen fanden nicht statt.

e) Grünblättriger Schwefelkopf (Hypholoma fasciculare =
Netoloma fasciculare)

Der Grünblättrige Schwefelkopf wurde von den Mykologen hinsichtlich seiner Giftigkeit sehr unterschiedlich beurteilt (ATKINSON, GRAMBERG, ZEITMAYR, MICHAEL-HENNIG). Anscheinend wurde dies u.a. durch die Tatsache bewirkt, daß zwei nahe Verwandte, nämlich Nematoloma sublateralitium und Nematoloma capnoides eßbar sind.

Der Pilz kann mit dem Hallimasch (Armillaria mellea) und dem Stockschwämmchen (Phaliota mutabilis) verwechselt werden. Er schmeckt aber sehr bitter.

Meist wird er in die Gruppe von Giftpilzen eingereiht, die vor allem durch lokale Reizung auf den Gastrointestinaltrakt wirken und nur bei geschwächten Leuten bzw. durch hinzutretende Komplikationen zum Tode führen. (MOESCHLIN, DONATELLI; s. S. 30).

MORTARA und MARTINETTI berichteten 1954 über die Vergiftung einer Familie. 5 - 6 Stunden nach der Mahlzeit kam es zu Erbrechen, Durchfall, Kollaps und Albuminurie. Die Genesung erfolgte innerhalb weniger Tage.

Auf tödliche Vergiftungen durch den Grünblättrigen Schwefelkopf wiesen HABERDA 1927, NARITA 1957 und WASILJKOW 1963 hin. HERBICH et al. vertreten 1965 auf Grund einer tödlich verlaufenden Intoxikation, die sie mit Sicherheit dem Grünblättrigen Schwefelkopf zuschreiben, die Ansicht, daß dieser Pilz neben den gastrointestinalen Erscheinungen zusätzlich schwerste Leberschädigung bewirkt.

Vergiftungsbild nach HERBICH et al.:

Nach einer Latenzzeit von 9 Stunden nach Pilzgenuß kam es zu Übelkeit, Erbrechen und "explosionsartiger" Entleerung wässriger Stühle. Nach einer scheinbaren Remission (Entlassung aus stationärer Behandlung) trat nach neuerlichen Beschwerden

in Form von Appetitlosigkeit und Übelkeit der Tod am 4. oder 5. Tag ein.

Pathologisch-anatomisch ergaben sich Zeichen einer schwersten Leberschädigung im Sinne einer mit hochgradiger Verfettung, Leberzellnekrose und Blutungen in das Leberparenchym einhergehenden subakuten "Leberatrophy". Weiterhin fand man exzessive feintropfige Verfettung der Nieren mit Auftreten von Eiweiß- und hyalinen Zylindern, sowie eine beträchtliche Verfettung des Herzmuskels und der Ganglienzellen des Gehirns. Diese makroskopischen und histologischen Befunde gleichen weitgehend den bei der Knollenblätterpilzvergiftung beschriebenen. Als besonders auffällig erwähnt HERBICH eine schmutzig-bräunlich-rötliche Färbung der Totenflecke.

4. Bedingt giftige Pilze

Hier sollen Pilze behandelt werden, die, obwohl sie meist völlig schadlos vertragen werden, in Einzelfällen Vergiftungen hervorrufen.

Darunter fallen: der

Kahle Krempling (*Paxillus involutus*),

Gelbe Knollenblätterpilz (*Amanita mappa* Batsch= *Amanita citrina*),

Faltentintling (*Coprinus atramentarius*),

Nebelgraue Trichterling (*Clitocybe nebularis*) und

Hallimasch (*Armillaria mellea*).

a) Kahler Krempling (*Paxillus involutus*)

Der Kahle Krempling wird häufig als schmackhafter Speisepilz geschätzt. Es ist bekannt, daß er, in rohem Zustand gegessen, schwere, bei Kindern und älteren Leute sogar tödliche Vergiftungen hervorgerufen hat (GRZYMALA 1958, STRAUS 1946). Der Krempling enthält offenbar ein starkes Gift, das durch längeres Erhitzen seinen toxischen Charakter verliert.

BSCHORR und MALLACH berichten jedoch über vier Kremlingsintoxikationen, von denen drei tödlich verliefen. In diesen Fällen handelte es sich um zubereitete Pilze.

Vergiftungsbild nach BSCHORR und MALLACH:

Der Verlauf führte ziemlich rasch zu schwersten Krankheitserscheinungen. 30 Minuten bis 2 Stunden nach Pilzgenuß stellte sich ein akuter Kreislaufkollaps ein. Der Puls war nicht mehr tastbar, der Blutdruck nicht zu messen. Dazu kamen starke Bauchschmerzen von kolikartigem Charakter. Der Tod erfolgte 4 - 30 Stunden nach der Mahlzeit. Bei leichteren Fällen scheinen keine Schmerzen und nur eine geringe Wirkung auf den Kreislauf ("Schwächezustände") aufzutreten.

Differentialdiagnose:

Myocard-, Lungeninfarkt; akutes Abdomen (Pankreatitis, Magenperforation); andere Vergiftungen.

Pathologisch-anatomisch fanden sich:

Kreislauffeffekte, in Form einer hochgradigen Blutfülle der Bauchorgane durch starke Vasodilatation, Atonie des Magen- Darmtraktes (nach 30 Stunden noch Pilzreste im Magen und oberen Dünndarm)

unspezifische Parenchymschäden, vor allem unterschiedlich ausgeprägte feintropfige Verfettung von Leber, Niere, Herz- und Skelettmuskulatur

starke Anschoppung von grob- und feintropfigem Fett in die Endstromgebiete von Lunge, Niere und Herz.

Prognose und Therapie:

Die Anzahl der berichteten Fälle ist noch zu gering, um bestimmte Aussagen über Prognose und Therapie machen zu können.

Bei den tödlichen Fällen lagen chronische Organschäden vor, die aber keineswegs einen baldigen Tod erwarten ließen.

Der letale Ausgang ist nach den Befunden allein auf die Vergiftung zurückzuführen.

Die Therapie wird sich vorläufig auf die allgemeine Behandlung der Pilzintoxikationen beschränken, wobei der Schwerpunkt auf die intensive Stützung des Kreislaufs zu legen ist.

Wirkungsmechanismus:

Ebenso können über die Angriffspunkte des unbekannten Giftes (Capillargift?) nur Vermutungen angestellt werden. BSCHORN und MALLACH denken infolge der Befunde an den Organen der primären Gifteinwirkung an eine örtliche Toxinvergiftung mit extremer Vasoparalyse und Permeabilitätsstörung. Ferner wird eine akute schwere Schädigung des Stoffwechsels (besonders deutlich erfaßbar am Fettstoffwechsel) durch Angriff am Fermentsystem der Zelle und des Blutplasmas angenommen.

b) Gelber Knollenblätterpilz (*Amanita mappa* Batsch)

Die Ansichten über die Giftigkeit des Gelben Knollenblätterpilzes haben sich im Laufe der Jahre stark geändert. Der Pilz wächst im Sommer und Herbst sehr häufig, oft truppenweise in Nadel- und Mischwäldern und kann in jungem Zustand mit dem Waldchampignon, der gelb gefärbten Form des Perlpilzes (RAUH) oder Grünlingen und Ritterlingen verwechselt werden (BÖTTICHER 1963). Er riecht unangenehm, schmeckt aber mild. Er galt früher als der giftigste Pilz, bis G. DITTRICH 1915 feststellte, daß die ihm zugeschriebenen tödlichen Vergiftungen von *Amanita phalloides* verursacht waren. Daraufhin angestellte Versuche bestätigen dies. So verspeisten 1927 auf einem Pilzkongress in Paris sechs Teilnehmer ein Gericht aus diesen Pilzen, daß ihnen nicht schlecht bekam (GRAMBERG), denn sie berichteten nichts Nachteiliges. Nach neueren Ergebnissen dürfte er aber weiterhin als giftig anzusehen sein (GEBNER, RAUH, TYLER jr. 1963, BÖTTICHER 1963), obwohl er sich bei weitem harmloser zeigt als die anderen Knollenblätterpilze.

In Einzelfällen ruft er, besonders in größeren Mengen genossen, gastroenteritische Erscheinungen (RAUH) hervor, bzw. kann nach ALDER 1960, MICHAEL-HENNIG zu ernstesten Erkrankungen mit Bewußtlosigkeit führen, die zuweilen in der Symptomatik einer leichten Pantherpilz- oder Muscarinin-toxikation entsprechen.

Wir selbst hatten im Herbst 1965 eine Massenvergiftung zu beurteilen, die mit ziemlicher Sicherheit durch den gelben Knollenblätterpilz hervorgerufen wurde. Es wird an anderer Stelle noch genauer darauf eingegangen. Über die Natur und die Wirkung seiner Giftstoffe ist soviel wie nichts bekannt. Er enthält Bufotenin (Th.WIELAND et al. 1953) und angeblich auch Muscarin (GEBNER),

c) Faltentintling (Coprinus atramentarius)

Eine Sonderstellung nimmt der Faltentintling ein, der ebenso wie der Netzstielige - und Flockenstielige Hexenröhrling (Boletus luridus und Boletus erythropus) an und für sich eßbar, zu unangenehmen Vergiftungserscheinungen führt, wenn er zusammen mit Alkohol gereicht wird oder der Alkoholgenuß innerhalb 48 Stunden nach der Mahlzeit erfolgt.

Vergiftungsbild:

Meist schon wenige Minuten nach Alkoholaufnahme kommt es zu starker Rötung im Gesicht und am Thorax mit Erweiterung der Hautgefäße, Kopfschmerzen, Schwindel, Tachycardie, Atemnot und schlechtem Allgemeinbefinden (ALDER 1961, HOMANN, MOESCHLIN). Gewöhnlich fehlen Erbrechen und Durchfälle (TYLER Jr. 1963).

Diese Symptome erinnern an die Wirkung von Alkohol nach einer Kalkstickstoffvergiftung oder nach der Behandlung mit Antabustabletten.

Prognose:

gut, meist spontane Remission

Therapie:

Alkoholabstinenz für 1 - 2 Wochen; in schweren Fällen eventuell Kreislaufbehandlung und 0,2 g Cysteinhydrochlorid = Cysthion (HOMANN).

Wirkungsmechanismus:

SIMANDL und FRANC berichteten 1956 die Isolierung von Disulfiram aus *Coprinus atramentarius*. Zwei von einander unabhängige weitere Untersuchungen (LIST und REITH 1956, WIER und TYLER 1960) konnten die Anwesenheit dieses ungewöhnlichen chemischen Stoffes im pflanzlichen Gewebe jedoch nicht bestätigen. Man vermutet eine Enzymblockierung durch das Toxin (MOESCHLIN), die durch Hemmung der Alkoholverbrennung in der Leber zum Anstieg von Acetaldehyd im Blut führt (ALDER 1961).

MERLEVEDE nimmt an, daß im Faltentintling Calciumcyanamid enthalten und für die Vergiftungserscheinungen verantwortlich ist.

d) Nebelgrauer Trichterling (*Clitocybe nebularis*) und Hallimasch (*Armillaria mellea*)

Diese Pilze verursachen öfters gastroenteritische Erscheinungen und sollten deshalb nur in abgebrühtem Zustand genossen werden (ALDER).

IV. Giftstoffe der Pilze

Die Isolierung und Strukturaufklärung ist bisher beim Muscarin, den Giftstoffen des Knollenblätterpilzes und bei der Helvellasäure gelungen. (Siehe auch unter Wirkungsmechanismus bei den einzelnen Pilzen).

1. Muscarin

a) Entdeckung und Vorkommen

Das Muscarin war der erste Wirkstoff eines Giftpilzes, bei dem die Isolierung, allerdings in unreiner Form, erfolgte.

Bereits im Jahre 1869 erhielten SCHMIEDEBERG und KOPPE durch alkoholische Extraktionen aus frischen Fliegenpilzen mit wiederholten nachfolgenden Einengungen, Filtrierungen und Fällungen aus 1 kg "consistentem Extracts" 0,7 - 0,9 g einer an der Luft sogleich zerfließenden Kristallmasse-schwefelsaures Muscarin.

Die frühzeitige Entdeckung des Muscarins ist durch sein Vorkommen in dem auffälligen Fliegenpilz (*Amanita muscaria*) bedingt, von dem es auch seinen Namen herleitet. Nach EUGSTER 1954 beträgt sein Anteil in diesem Pilz nur 0,0003%. FAHRIG isolierte 1920 als erster, durch die bei Vergiftungen auftretenden Symptome aufmerksam gemacht, das Muscarin aus Rißpilzen. Durch Vergleich der biologischen Aktivitäten gab er deren Gehalt an Muscarin 20 Mal höher an als beim Fliegenpilz. Diese Zahl, die man auch heute noch in den meisten Pilzbüchern findet, hat sich als viel zu niedrig erwiesen. Je nach Ernte konnte EUGSTER 1957 die 120-380-fache Menge an Muscarin aus Rißpilzen darstellen. Er gab den Gehalt des Ziegelroten Rißpilzes mit etwa 0,034 % H.MÜLLER 1959 mit 0,014 % Muscarin an.

BROWN fand 0,73 % in der Trockensubstanz. Der Toxingehalt schwankt beträchtlich nicht nur innerhalb der einzelnen Inocybearten, sondern auch je nach Ernte und Standort. Vergleichsweise sind die Zahlenangaben älterer Autoren (FAHRIG 0,36 %, MECKE 0,5 %) zu hoch, da sie durch physiologische Versuche errechnet wurden, bei denen unreines Muscarin als Normsubstanz diente.

b) Isolierung nach C.EUGSTER 1957

Die mit 95%igem Athanol aus frischen Rißpilzen angefertigten Extrakte werden gefiltert und im Vakuum unter Stickstoff eingedampft. Der Rückstand wird in Wasser gelöst und mit Benzol und Ather entfettet. Die klare wässrige Lösung wird mit gesättigter Ammoniumreineckat-Lösung versetzt, der kristalline Niederschlag mit Eiswasser gewaschen und in warmen absolutem Aceton gelöst. Die Zerlegung der Reineckate geschieht durch Zugabe von AgSO_4 , BaCl_2 und H_2O . Die so erhaltenen Chloride werden zur weiteren Reinigung in wässriger Lösung durch eine kurze Säule des Ionenaustauschers Amberlite IRA 400 (OH^-) perkoliert, wobei Muscarin und Cholin rasch durch die Säule wandern. Nach Neutralisation des Perkolats mit 0,5 nHCl und Eindampfen der Lösung löst man den Rückstand unter Zuhilfenahme von etwas Methanol in Butanol, das mit NH_3 -Wasser (1:9) äquilibriert worden ist. Die Auftrennung des Chloridgemisches wird mit einer Säule von 60g Cellulosepulver (Whatman Standard Grade) durchgeführt. Aus den muscarinhaltigen Fraktionen läßt sich mit 20%iger Goldchlorwasserstoffsäure reines Muscarintetrachloraurat kristallin abscheiden. Nach Zerlegung mit Schwefelwasserstoff in Wasser und Methanol, Entfernen des Schwefelwasserstoffs im Vakuum und Durchschütteln der Lösung mit frisch bereitetem Silberchlorid läßt sich Muscarinchlorid aus Isopropanol-Aceton kristallisieren.

c) Chemie:

Obwohl die chemischen und physiologischen Eigenschaften des Muscarins seit langem bekannt waren, wurde seine Struktur erst in letzter Zeit aufgeklärt.

1954 stellten EUGSTER und WASER die richtige Bruttoformel des Alkaloids auf.

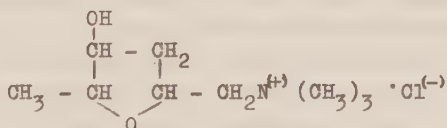
1957 klärten KÖGL et al. endgültig die Konstitution des Muscarins mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse.

Die absolute Konfiguration ermittelten HARDEGGER und LOHSE 1957 mit Hilfe stereospezifischer Synthesen. Bei der Synthese sind infolge der zwei asymmetrischen Kohlenstoffatome vier optisch aktive Formen zu erwarten. KÖGL, EUGSTER 1957, CORRODI et al. 1957, FURTER 1958 stellten sämtliche Stereoisomeren des Muscarins her. Dabei zeigte es sich, daß die synthetischen Isomerenpaare (WASER 1958) weit weniger pharmakologisch wirksam sind als das natürliche (+)- Muscarin. Die Wirksamkeit hängt von der Stellung der Konstituenten am Tetrahydrofuranring ab. Sterische Behinderung gewisser Gruppen spielt eine wichtige Rolle beim Kontakt mit den cholinergischen Rezeptoren.

Summenformel: $C_9H_{20}O_2N^+$

Struktur nach KÖGL 1957:

Muscarin ist das quaternäre Trimethylammoniumsalz von 2-Methyl-3-oxy-5-(aminomethyl)-tetrahydrofuran.



MG 188,25 F 181-182°

Charakteristik:

zerfließende Kristalle, die sich in Wasser mit alkalischer Reaktion lösen

Chlorid: kurze, dicke Prismen (aus Methanol + Äther oder Isopropanol + Aceton), stark hygroskopisch; empfindlich gegen Sauerstoff; besonders in saurer Lösung; leichtlöslich in Wasser u. Alkohol.

Chloroaurat: glänzende Blätter (aus verd. Salzsäure);
F 118 - 121°.

Reineckat: Kristall (aus Wasser); löslich in Aceton.

2. Amanita - Toxine

a) Entdeckung und Vorkommen

Im Gegensatz zum Muscarin wurden die Toxine von Amanita phalloides viel später isoliert und untersucht.

Bis 1930 war man über die Erkenntnis nicht hinausgekommen, daß der Giftpilz neben einem thermolabilen Hämolysin, das die Todesfälle durch gekochte Pilze nicht verursachen kann, ein thermostabiles "Amanitatoxin" enthält (ABEL und FORD 1907).

1931 reicherte RAAB aus Pilzpreßsäften hauptsächlich durch Schwermetallsalzfällungen das Amanitatoxin etwa 100fach an. Die erste Darstellung des Phalloidins in kristallisierter Form erfolgte 1937 (LYNEN und U.WIELAND), die des Amanitins 1941 (H.WIELAND und R.HALLERMAYER).

Im letzten Jahrzehnt gelang durch Th. WIELAND et al. die Isolierung von sechs Komponenten des Giftstoffes, bei fünf von ihnen wurde die Strukturformel ermittelt (s.S.70 und S.71). Zusammenfassende Darstellung siehe Th. WIELAND und O.WIELAND 1959, Th.WIELAND 1961).

Die Amanita-Toxine sind die giftigen Bestandteile des grünen (*Amanita phalloides*), weißen (*Amanita virosa*) und Frühlingsknollenblätterpilzes (*Amanita verna*).

Nach Th. WIELAND 1956 enthalten 100 g frischer Pilze von *Amanita phalloides*:

Phalloidin	10 mg
α -Amanitin	8 mg
β -Amanitin	5 mg
γ -Amanitin	0,5 mg
Phalloin	Spuren
Phallacidin	Spuren

b) Isolierung nach Th. WIELAND 1957

Die Toxine werden durch Methanol aus frischen Pilzen extrahiert. Danach wird filtriert, abgepresst und das Methanol im Vakuum entfernt. Der entstandene Sirup wird mit der 5 - 10-fachen Menge Methanol versetzt, das zurückbleibende Kaliumchlorid abfiltriert und das Methanol nochmals verdampft. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen und solange mit Bleiacetat versetzt bis keine starke Fällung mehr eintritt. Die Bleifällung wird abfiltriert, das Filtrat vom überschüssigen Blei gereinigt und mit Ammoniumsulfat gesättigt. Hierbei scheiden sich die Giftstoffe ab, der Rest wird durch Ausschütteln mit sekundärem Propanol herausgeholt. Auf diese Weise gewinnt man ein sogenanntes Primärmaterial, das zu 10 - 20 % aus den Toxinen neben vorwiegend sauren, aber auch basischen Ballaststoffen besteht. Diese werden durch Anionen- und Kationenaustauscher entfernt (MANNES).

Phalloidin, α -Amanitin und β -Amanitin werden durch Verteilungs- und Adsorptionschromatographie an Tonerde getrennt. Reindarstellung erfolgt durch Umkristallisierung in Methanol.

Phalloin, welches rascher wandert als Phalloidin, findet sich im Chromatogramm in solch reiner Form, daß es sofort aus Wasser kristallisiert (TH. WIELAND und K. MANNES 1957).

γ -Amanitin und Phallacidin können aus den Mutterlaugen der Phalloidin- und β -Amanitin durch fraktionierte Kristallisation isoliert werden.

c) Chemie:

Die sechs bisher isolierten Giftstoffe sind bicyclische Peptide (Molekulargewicht etwa 1 000) aus wenigen Aminosäuren, von denen einige in Eiweißen nicht vorkommen. Alle Peptide enthalten ein S-Atom pro Molekel, das einem Cystein angehört. Sie sind Abkömmlinge des Indols. Durch verschiedene chemische Eingriffe und die Synthese künstlicher Varianten stellte sich heraus, daß recht bedeutende Veränderungen an der Peripherie des Ringsystems (Änderung der Substituenten) keinen Einfluß auf die biologische Wirksamkeit haben. Durch Öffnung des Ringes an irgendeiner Stelle oder Spaltung der Schwefelbrücke verlieren die Toxine ihre Giftwirkung vollständig.

Die Giftstoffe lassen sich auf Grund ihrer UV-Spektren, Farbreaktion mit Zimtaldehyd-HCl und Toxizität in zwei Gruppen, nämlich die Phalloidin- und die Amanitingruppe einteilen.

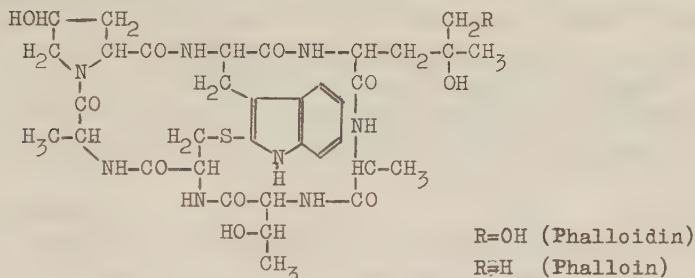
I. Phalloidingruppe

1. Phalloidin

MG 788,85 F 280-282° (Zerstörung bei raschem Erhitzen)

Summenformel: $C_{35}H_{48}O_{11}N_8S$

Struktur nach Th.WIELAND und W. SCHÖN 1955:



Charakteristik:

Nadeln (aus Methanol) - leicht löslich in heißem Wasser, 0,5% in Wasser bei 0°C) Methanol, Äthanol, Butanol, Pyridin

2. Phalloin

MG 772,85 F 250-280° (Zerstörung)

Summenformel: $C_{35}H_{48}O_{10}N_8S$

Strukturformel: (Th.WIELAND, K.MANNES u. A.SCHÖPF 1958)

s. Phalloidin, mit R=H

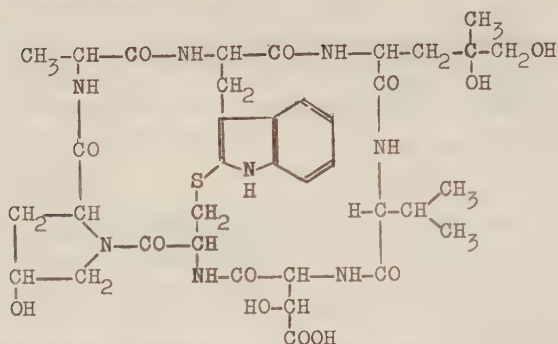
Charakteristik: Nadeln (aus Wasser), in Methanol leichter löslich als Phalloidin

3. Phallacidin

MG 846,92

Summenformel: $C_{37}H_{50}O_{13}N_8S$

Strukturformel: (Th. WIELAND und W. SCHNABEL 1962)



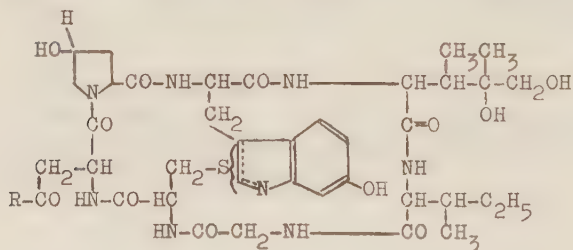
Charakteristik: leichtlöslich in Wasser, Methanol, weniglöslich in Äthanol,

II. Amanitingruppe

1. α -Amanitin

MG 1072 F 254-255°

Hypothetische Strukturformel: (Th. WIELAND 1961)



α -Amanitin R = NH₂

β -Amanitin R = OH

Charakteristik:

Nadeln (aus Methanol), löslich in Methanol, Äthanol, Propanol, Pyridin

α -Amanitin ist das Amid des β -Amanitins - Beweis durch Partialsynthese aus β -Amanitin (Th. WIELAND und W. BÖHRINGER 1960), Eigentlicher Baustein ist sehr wahrscheinlich Asparigin.

β -Amanitin

Mit α -Amanitin strukturgleich, mit Ausnahme Aspariginsäure anstelle Asparigin.

Hypothetische Strukturformel (Th. WIELAND 1961):

α -Amanitin mit R = OH

Charakteristik:

Gegenüber α -Amanitin saure Reaktion.

γ -Amanitin

Beim γ -Amanitin sind die Untersuchungen trotz der Aufklärung einiger Bausteine noch nicht so weit gediehen, daß eine Strukturformel aufgestellt werden könnte.

Gegenüber den anderen Amanitinen liegt anstelle des Glycins Alanin vor.

Alle Amanita-Toxine sind unlöslich in wenig polaren organischen Lösungsmitteln.

Über ihre Erkennungsreaktionen, R_f -Werte, UV-Spektren und Toxizität siehe Tabellen S. 78, 79 und 85.

3. Helvellasäure:

a) Entdeckung und Vorkommen

Im Jahre 1885 isolierten BOEHM und KÜLZ aus der Lorchel (*Helvella esculenta*) eine im Tierversuch Hämolyse erzeugende Substanz, für die sie den Namen Helvellasäure vorschlugen. Sie erhielten dabei aus 50 kg frischen Pilzen 2,55g dieses Stoffes.

Die geringe Ausbeute führten sie auf die großen Verluste im Verlauf des Isolierungsverfahrens infolge der Zersetzlichkeit und Flüchtigkeit der Substanz zurück. Zudem mußten sie bei der Entwicklung und Prüfung des Verfahrens wegen des Mangels an charakteristischen chemischen Reaktionen auf Tierversuche zurückgreifen. So lassen sich über den Gehalt der Lorcheln an Helvellasäure keine näheren Angaben machen.

Isolierung nach BÖHM und KÜLZ 1885

Die frischen, zerkleinerten Morcheln werden mit der doppelten Gewichtsmenge absoluten Alkohols 2-3 Tage lang maceriert, abfiltriert und abgepreßt. Der Alkohol wird im Vakuum bei 60° C entfernt. Die wässrigen Rückstände werden mit der 6-8fachen Volumenmenge Äther versetzt und 2x ausgeschüttelt. Nach Abdestillierung des Äthers im Wasserstoffstrom erhält man einen dicken grünlich-braun gefärbten, sehr fettreichen Sirup. Dieser wird nach längerem Stehen über Schwefelsäure im Vakuum solange mit absolutem Äther versetzt bis keine Trübung mehr auftritt. Nach Filtrierung und Entfernung des Äthers wird der Rückstand in 4 Volumen absolutem Alkohol gelöst und nochmals filtriert. Das alkoholische Filtrat wird auf dem kochenden Wasserbad unter ständigem Rühren in der 3fachen Menge heißen Wassers 2 Min. lang erhitzt. Nach Filtrierung und Eingungung erhält man die Helvellasäure.

Chemie:

Mit Hilfe der Elementaranalyse stellten BÖHM und KÜLZ die Bruttoformel $C_{12}H_{20}O_7$ für die Helvellasäure auf.
MG 276,32

Charakteristik:

hellgelbliche, durchsichtige, zähe Substanz; stark sauer reagierend; leichtlöslich in heißem Wasser, Äther, Äthanol; verflüchtigt bei längerem Stehen.
Bariumsalz: weißes, lockeres, amorphes Pulver.

4. unbekannte Gifte

a) in der Lorchel

Neben der Helvellasäure nimmt man in der Lorchel noch ein unbekanntes amanitinähnliches Zellgift an, das die beim Menschen beobachteten Vergiftungserscheinungen hervorruft. (s.S. 56). Von den Toxinen des Knollenblätterpilzes unterscheidet es sich durch seine Löslichkeit in heißem Wasser und seine Unbeständigkeit im getrockneten Pilz.

b) im Fliegen- und Pantherpilz

Über die chemische Natur des Hauptwirkstoffes des Fliegen- und Pantherpilzes, des sogenannten "Mycetoatropin" = Muscaridin, können nur Vermutungen angestellt werden.

HEIM 1965 denkt an eine indolartige Struktur. EUGSTER 1959 fand im Fliegenpilz Spuren von Indolderivaten.

Nach BUCK 1963 soll das "Pilzatropin" mit dem L-Hyoscyamin identisch sein, was jedoch von Tyler Jr. 1963 u.a. bezweifelt wird.

V. Verfahren zum Nachweis von giftigen Pilzen

1. Chemisch-toxikologische Nachweisverfahren

Soweit die Wirkstoffe der Giftpilze isoliert, bzw. ihre Strukturformeln aufgestellt wurden, existieren chemisch-toxikologische Nachweisverfahren.

a) Amanita-Toxine

BLOCK et al. gaben ein Verfahren an, die Toxine von Amanita phalloides aus einer geringen Menge Pilzmaterial zu isolieren und nachzuweisen.

Arbeitsanleitung:

1 g zerkleinerter Pilz wird im Becherglas mit Methanol mindestens 2 Minuten lang gekocht, mit dem Glasspatel gerührt und filtriert. Der Extrakt wird auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand in einigen Tropfen Methanol gelöst und auf das Papierchromatogramm (Whatmann No.1 oder S&S 2043 b) aufgetragen. Als Laufmittel dient Methyläthylketon, Aceton, Wasser und Butanol im Verhältnis 20:6:5:1. Die Entwicklungszeit beträgt etwa 40 Minuten. Dann wird der Streifen luftgetrocknet. Die Sichtbarmachung der gesuchten Giftstoffe erfolgt durch Besprühen mit 1%iger methanolischer Zimtaldehydlösung und Aufhängen des Papiers in einem geschlossenen Gefäß über konzentrierter Salzsäure. Bei positiver Reaktion zeigen sich violett- oder blaugefärbte Flecken. Orange, gelbe, braune oder rosa Verfärbungen haben keine Bedeutung.

Dieses Verfahren kann man mit leichten Abänderungen auch zur Differenzierung der einzelnen Toxine verwenden.

Hierbei extrahiert man die Giftstoffe in Methanol länger als 1 Stunde, löst und verdampft den Extrakt je 3 Mal um die Polypeptide zu koagulieren, und läßt die Lösung 2 Stunden laufen.

Die Phalloidingruppe (Phalloidin, Phalloin, Phallacidin) gibt dann mit Zimtaldehyd-HCl blaue Flecken, während die Amanitingruppe (α -, β -, γ -Amanitin), welche 10mal empfindlicher auf dieses Reagens anspricht, tiefrot-violette Verfärbungen erzeugt.

Innerhalb der beiden Gruppen unterscheiden sich die einzelnen Toxine durch ihren Rf-Wert. Das γ -Amanitin läßt sich auf imprägniertem Papier (mit Borat-Puffer) vom Phalloidin abtrennen. (Th.WIELAND 1957)

Th.WIELAND verwandte beim papierchromatographischen Nachweis der aus den Pilzen extrahierten Toxine ein Gemisch aus Aceton-Butanon-Wasser (2:20:5, obere Phase) als Laufmittel. Die Giftstoffe sind in Tab. 1 schematisch abgebildet und wie im Papierchromatogramm angeordnet, wobei die Anzahl der Unterstreichungen ihre relative Konzentration andeutet.

Rf		Farbe mit Zimtaldehyd in HCl	
1,0	Front		
0,9			
0,8	○ -X	violett	
0,7			
0,6	○ -Phalloin (2)	blau	
0,5	<u>○</u> -Amanitin- ○ -Phalloidin (2)	violett blau	
0,4			
0,3			
0,2	<u>○</u> -Amanitin- ○ -Y	blau violett	
0,1	<u>○</u> -Amanitin- ○ -Phallacidin (2)	blau violett	

Tab. 1: Zimtaldehyd-positive Inhaltsstoffe von *Amanita phalloides* (Th.WIELAND 1961)

TYLER Jr. et al. untersuchten 1966 verschiedene Amanita-arten auf ihren Gehalt an α - und β -Amanitin mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie.

Sie extrahierten die Toxine mit 50%igem Athanol aus den Pilzen. Chromatographiert wurde auf Kieselgel.G. Als Laufmittel diente NaOH-Methyl, Äthylketon im Verhältnis 1:1. Nach Besprühen mit 1%iger methanolischer Zimtaldehydlösung in Salzsäureatmosphäre zeigten sich violette Flecke mit durchschnittlichen Rf-Werten von 0,47 für α -Amanitin und 0,23 für β -Amanitin. Die Nachweisgrenze lag bei etwa 0,3 γ .

Im Ultraviolett-Licht geben die Amanita-Toxine (nach Th. WIELAND 1957 etwa 80 γ /ml Wasser) charakteristische Absorptionsspektren. Das Maximum liegt bei der Phalloidin-gruppe im Bereich von 290 m μ , bei der Amanitingruppe im Bereich von 305 m μ .

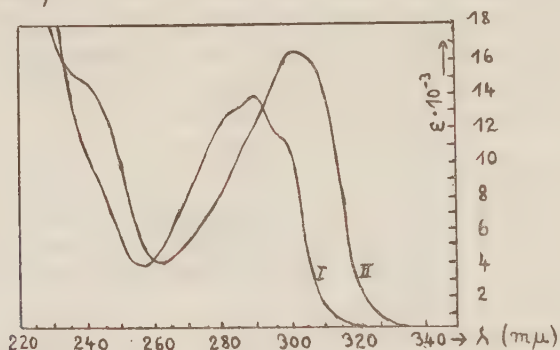


Abb. 2: UV-Spektren von Phalloidin, Phalloin oder Phallacidin (I) und von α - oder β -Amanitin(II) in Wasser (Th. WIELAND 1961).

In Tab. 3 seien die wichtigsten Daten der Giftstoffe des Knollenblätterpilzes für ihre Erkennung in minimalen Dosen vergleichend zusammengestellt.

Toxin	Reaktion mit Zimtaldehyd-HCl	Max.d.UV- Abs.-Sp. (m μ)	Rf-Wert *
Phalloidin	hellblau flüchtige Farbe erfaßt 10-20 γ	290	0,5
Phalloin	hellblau, flüchtige Farbe erfaßt 10-20 γ	290	0,6-0,65
Phallacidin	hellblau, flüchtige Farbe erfaßt 10-20 γ	290	[^] 0,15
α -Amanitin	tiefrot-violett erfaßt 1-2 γ	305	0,41
β -Amanitin	tiefrot-violett erfaßt 1-2 γ	305	0,24
γ -Amanitin	tiefrot-violett erfaßt 1-2 γ	305	0,5

* System: 2-Butanon-Aceton-Wasser (20:2:5) obere Phase

[^] System: Butanon-Aceton-Wasser (30:3:7,5) obere Phase

Tab. 3: Farbreaktionen und Empfindlichkeit der Amanitatoxine mit Zimtaldehyd-HCl, UV-Absorptionsmaximen, Rf-Werte.
nach Th. u. O. WIELAND 1959.

Da α -Amanitin der Hauptwirkstoff des Knollenblätterpilzes ist, genügt sein Nachweis zur Charakterisierung fraglicher Pilze.

ABUL HAY et al. beschreiben 1963 ein Verfahren für den Nachweis der Toxine des Knollenblätterpilzes aus der Leber eines Vergifteten.

Arbeitsanleitung:

400 g Leber werden homogenisiert und mit Methanol 12 Stunden lang auf dem Wasserbad erhitzt, wobei durch wiederholtes Nachfüllen von Methanol die Menge von 1 - 1 1/2 l konstant erhalten wird. Nach Abkühlung wird filtriert, das im Gewebe verbliebene Methanol ausgepreßt und mit dem Filtrat vereinigt. Nach Abdampfen des Methanols wird der erhaltene Sirup in 10 Volumenteilen Methanol gelöst und filtriert. Das Filtrat wird nach der von Th. WIELAND 1957 für die Isolierung der Giftstoffe aus Pilzextrakten angegebenen Vorschrift weiterbehandelt. (s.S.68).

Farbreaktionen für die einzelnen Toxine

Die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes geben auf Grund ihrer indolart. Struktur mehrere Farb-, Fällungs- und Reduktionsreaktionen, durch die sie nach ihrer Isolierung unterschieden werden können (s. Tab. 4).

	Phalloidin	α -und β -Amanitin	γ -Amanitin
Fe^{3+} -haltige konz. H_2SO_4	leuchtend blau	olivgrün, verblaßt nach gelb	olivgrün, verblaßt nach gelb
Folin-Denis	blau	blau	blau
Millons Reagens	braun	braun	braun
Diazot.Sulfanilsre. (Pauly)	gelb	rot	rot
Hopkins-Cole	negativ	blau	blau
Ammoniak.Silberlösung	negativ	wird sofort reduziert	wird bei 70°C rasch reduziert

Tab. 4: Farbreaktionen der Amanita-Toxine nach Th. WIELAND 1957

Die Reduktion einer ammoniakalischen Silberlösung ist nach HALLERMAYER die empfindlichste Reaktion zum Nachweis von Amanitin (erfaßt 1/10mg).

b) Muscarin

Die Identifizierung des Muscarins ist schwierig durchzuführen, da es von dem in seinem chemischen Verhalten ähnlichen Cholin schlecht abzutrennen ist.

H.MÜLLER färbte 1959 das Muscarin nach papierelektrophoretischer Trennung vom Cholin durch Draggendorf's Reagens an.

BROWN et al. entwickelten 1962 ein Verfahren, den Muscarin-gehalt der Inocybearten ungefähr zu bestimmen. Das Muscarin wird auf papierchromatographischem Weg von Cholin und anderen quartären Basen getrennt. Durch Thies⁴ und Reuther's Reagens kann es sichtbar gemacht werden. Das Brownsche Verfahren modifiziert nach TYLER (1963) zum qualitativen Nachweis des Muscarins im frischen oder getrockneten Pilzmaterial sei hier angegeben.

Arbeitsanleitung:

50 g frische, bzw. 5 g getrocknete Pilze werden mit 100 ml einer Mischung von absolutem Alkohol und 10%iger Ammoniumhydroxydlösung im Verhältnis 19:1 versetzt und homogenisiert. Nach Abfiltrierung wird der Rückstand noch 2x extrahiert, und die vereinigten Extrakte werden im Wasserstrahlrahmen bei 50°C zu etwa 2 ml dicken Sirup eingeengt. Diesen löst man mit 3 g NaOH in 25 ml destilliertem Wasser und fügt 5 ml 13%ige methanolische Ammoniumreineckatlösung hinzu. Nach Abkühlung und Zentrifugieren wird die überstehende Lösung abdekantiert, der Niederschlag mit kaltem Propanol ausgewaschen und in 7 ml Aceton gelöst. Das so erhaltene quarternäre Reineckat wird durch Zugabe von

1,4 ml Wasser, 5 ml gesättigter Silbersulfatlösung und 0,5 ml 20%iger wässriger Bariumchloridlösung in die entsprechenden Chloride verwandelt. Nach weiterem Abkühlen, Zentrifugieren und Dekantieren, läßt man den Rückstand bis zur Eintrocknung abdampfen und löst ihn in der kleinstmöglichen Menge absoluten Alkohols (weniger als 10 ml). Dieser enthält nun einen gereinigten Extrakt der quartären Chloride, die chromatographisch untersucht werden können. Dies geschieht auf 20 cm² großen Blättern von Whatmann No.1 Papier, welches durch Eintauchen in eine Mischung aus 10,92 Teilen 0,1 M Zitronensäurelösung und 9,09 Teilen 0,2 M Na₂HPO₄-Lösung auf einen pH-Wert von 4,5 gebracht wurde. Auf das für die Ringchromatographie vorbereitete Blatt werden 50 µl des gereinigten Extraktes in Methanol mit der Mikropipette in je 10 µl Mengen aufgetragen. Als Laufmittel gibt man 50 ml Butanol-Methanol-Wasser (10:3:2) in eine Petrischale, legt das Blatt darüber und chromatographiert etwa 2 Stunden. Anschließend besprüht man mit Thies' und Reuther's Reagens: Dieses wird aus 2,6g Wismut carbonat und 7 g Natriumjodid mit 25 ml Eisessig durch Erhitzen und Abfiltrieren als haltbare Stammlösung bereitet. Um das Sprühreagens herzustellen, werden 10 ml dieser Lösung mit 50 ml Eisessig und 120 ml Athylacetat versetzt und unter beständigem Schütteln 10 ml destilliertes Wasser tropfenweise zugesetzt.

Nach dem Trocknen erscheinen Muscarin und Cholin als halbkreisförmige, dunkelorange-rote Zonen mit durchschnittlichen Rf-Werten von 0,28 bzw. 0,09.

Acetylcholin erscheint gewöhnlich nicht, da es durch die alkalische Extraktion hydrolysiert wird. Sonst gibt es ebenfalls eine orange-rote Zone (Rf = 0,23).

In der angegebenen Weise läßt sich durch diesen Test ein Muscarinanteil im Pilzgewebe nachweisen, der über 0,005% betragen muß. Eventuell kann man die Empfindlichkeit durch

weitgehendere Konzentration des gereinigten Extraktes bei einer größeren Ausgangsmenge von Pilzen oder durch Auftragen einer reichlicheren Menge des Extraktes auf das Chromatogramm erhöhen.

c) aldehydartige Substanzen in Lorcheln

REIF (1935, 1936 und 1938) gibt Vorproben zur Unterscheidung der giftigen Lorcheln von den eßbaren Morcheln an. Der Test beruht darauf, daß sich im Destillat von Lorcheln flüchtige reduzierende aldehydartige Substanzen finden, die mittels Farbreaktionen mit Selenigschwefelsäure, Wolframmolybdänsäure und Fuchsinchwefliger Säure nachzuweisen sind. Morcheln sollen diese Stoffe nicht enthalten.

Arbeitsanleitung:

10 g fein zerkleinerte Pilze (oder 1g getrocknetes Pilzpulver) werden zusammen mit 40 ml Wasser, 10 ml 10%iger Natronlauge, 5 g Kochsalz und einigen Glasperlen in eine 500 ml-Flasche gegeben, gut vermischt und davon 30 ml überdestilliert. Die Erhitzung muß langsam erfolgen, um zu reichliche Dampfbildung zu verhindern.

Prüfung mit Selenigschwefelsäure:

15 ml des farblosen Destillats werden mit 15 Tropfen Selenigschwefelsäure-Reagens (=0,5 g Selensäure gelöst in 100 ml konzentrierter Schwefelsäure) versetzt und 15 Minuten lang auf dem kochenden Wasserbad erwärmt. Positiv ist die Reaktion dann, wenn sich nach 5-15minütigem Abkühlen ein Niederschlag von rotem amorphem Selen bildet.

Prüfung mit Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure:

3-4 ml des mit verdünnter Schwefelsäure neutralisierten Destillats werden auf 10 ml verdünnt, mit 0,5 ml 10%iger Salzsäure und 1 ml des Reagens (bereitet aus 3,00 g Natrium-

wolframat, 2,00 g Dinatriumphosphat, 0,05 g Molybdänsäure und 25 g Wasser, neutralisiert mit konzentrierter Salpetersäure) versetzt und auf der Flamme rasch bis zum Siedebeginn erhitzt. Bereits während des Erhitzens oder unmittelbar nachher tritt Violett-färbung ein.

Prüfung mit Fuchsinschwefliger Säure:

3 ml des Destillats werden mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert, mit 1-3 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure (1,84) versetzt und kräftig geschüttelt. Bei Zugabe von 0,5 ml Fuchsinschwefliger Säure und nochmaligem Schütteln bildet sich nach mehrstündigem Stehen eine rot- bis blauviolette Färbung.

Nach REIF 1938 verlieren die Lorcheln durch Ausziehen mit Wasser und nach Trocknung durch längeres Liegen an der Luft ihre Reduktionsfähigkeit. Diesem parallel läuft auch der Verlust ihrer Giftigkeit.

Dieses zur Pilzdifferenzierung benutzte Verfahren verwandte KAMPF 1954 zum Nachweis von Lorcheln im Dickdarminhalt.

Arbeitsanleitung:

40 g Darminhalt werden mit 30 ml 10%iger Natronlauge, 60 ml Wasser und 10 g Kochsalz versetzt, gut vermischt und 20 ml langsam überdestilliert.

Verschiedene Mengen des farblosen Destillats werden wie oben angegeben mit je einem der drei Reagentien versetzt, wobei sich bei positivem Ausfall der Proben die typischen Farbreaktionen ergeben.

d) Spektralphotometrische Untersuchungen von Pilzextrakten

KOLOKOLTSEV et al. gaben 1962 ein Verfahren an zur Identifizierung von Pilzen mit Hilfe der Spektralanalyse. Sie verwandten ein UV-Spektralphotometer SF4 (220-1100 m μ). Es wurden Extrakte aus verschiedenen giftigen und nicht giftigen Pilzen angefertigt. Dazu wurde 1 g des Pilzes (je 0,5 g vom Hut und vom Stiel) in 20 ml 70%igem Athanol bei 30°C 24 Stunden lang stehen gelassen und filtriert. Bei der spektrophotometrischen Untersuchung dieser alkoholischen Extrakte fand man charakteristische Spektren im Gebiet von 240-300 m μ . Die giftigen Pilze ließen sich von den nicht giftigen klar unterscheiden. Das Alter und der Standort der Pilze habe auf die Absorptionsspektren keinen Einfluß.

KOLOKOLTSEV et al. erklärten die Spektralanalyse als zukünftige Methode zum Nachweis von Pilzvergiftungen.

2. Physiologische Nachweisverfahren

Früher wurde die physiologische Wirkung der in den Giftpilzen vorhandenen Toxine zu deren Nachweis verwendet. Heute finden die sehr empfindlichen physiologischen Nachweismethoden für die nach Elution aus dem Chromatogramm gewonnenen Toxine Anwendung.

a) für die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes

1932 gab RAAB den sogenannten "Meerschweinchentest" an, der später als "Mäusetest" abgewandelt und von LYNEN 1937 folgendermaßen ausgearbeitet wurde:

Man injiziert 16 - 20 g schweren weißen Mäusen die Versuchslösung in die Schwanzvene. Der Test gilt als positiv, wenn mindestens zwei von drei Mäusen nach der charakteristischen langen Latenzzeit von 2 - 3 Tagen zugrunde gehen. Unter einer Mäuseeinheit (M.E.) versteht man die Menge an Toxinen, bezogen auf 1 kg Tier, die nötig ist, eine Maus zu töten. (siehe Tab. 5).

Vom Gesamtgift des Knollenblätterpilzes bewirken etwa 20% den Tod einer weißen Maus, wie sich aus dem prozentualen Anteil und der D_L der verschiedenen Toxine berechnen läßt.

Toxin	LD_{50}	in mg/kg
	weiße Maus	
Phalloidin	1,9	
Phalloin	1,4	
Phallacidin	2,5	
α -Amanitin	0,1	
β -Amanitin	0,4	
γ -Amanitin	0,8	

Tab. 5: Toxizität der Amanita-Toxine für die weiße Maus nach Th.WIELAND 1961.

b) für Muscarin

Seit langem bekannt ist der physiologische Nachweis des Muscarins auf Grund seiner pharmakologischen Eigenschaften. Am empfindlichsten sind diese am isolierten Froschherzen nach STRAUB zu prüfen. Man muß dabei beachten, daß die Frösche je nach Jahreszeit und individueller Reaktion verschieden resistent gegenüber der Wirkung des Muscarins sind.

Das Muscarin verursacht am Herzen auf Grund seiner negativen ino- und chronotropen Wirkung Verminderung der Hubhöhe und Verlangsamung der Schlagfrequenz bis zum diastolischen Herzstillstand. Diese Wirkung wird dadurch charakterisiert, daß sie sich durch Atropin wieder aufheben läßt (SCHMIEDEBERG).

FÜHNER betont, daß Angaben über die Wirkungsstärke des reinen, natürlichen Muscarins wegen dessen schwächerer Zugänglichkeit keine praktische Bedeutung haben.

Er und ROSENOW verwandten daher das "künstliche salzsaure Cholinmuscarin" (= Oxycholin, entspricht nicht dem natürlichen Muscarin) in Ringerlösung (0,5 ml in die Herzkanüle gebracht) und fanden bei einer Verdünnung von 1:100 000 deutliche Verminderung der Hubhöhe und bei 1:50 000 bis 1:75 000 diastolischen Stillstand. 0,5 - 1 mg erwies sich als mittlere tödliche Dosis für kleine Wasserfrösche bei Injektion in den Oberschenkellymphsack.

FÜHNER gab 1908 auch ein Verfahren an, auf physiologischem Wege das Muscarin quantitativ zu bestimmen. Dazu prüft man zu Beginn des Versuches die Empfindlichkeit des Herzens in weiten Grenzen durch Verdünnungen von bekannten Lösungen, von denen eine Verminderung der Hubhöhe, die andere Herzstillstand herbeiführt.

Dann gibt man die unbekannte Lösung in verschiedenen Konzentrationen in das Froschherz und zieht durch Vergleich mit der Eichlösung die engeren Grenzen ihrer Wirksamkeit.

KÖGL et al. definierten 1931 den Begriff der Muscarineinheit (ME.) als diejenige Menge, welche in 1 ml gelöst bei Fröschen die Herzamplitude (Hubhöhe) auf 75 % des Ausgangswertes vermindert.

Danach enthielt 1 g Muscarinchlorid 175×10^6 ME, EUGSTER und WASER 1954 verwandten bei der Isolierung des reinen Muscarins aus Fliegenpilzen zum pharmakologischen Nachweis der Anreicherung bei der Aufarbeitung und zur Identifizierung in Chromatogrammen Straubsche Froschherzen. Bei den anschließend durchgeführten Versuchen zur Aktivitätsbestimmung entsprach bei 32 - 50 g schweren Temporarien im März-April 1 ME. dem statistisch gesicherten Wert von $0,0042 \pm 0,00032$ reinem Muscarinchloridhalbhydrat. Demnach enthielt 1 g Muscarinchlorid 238×10^6 ME. Atropin in Konzentrationen von 10^{-8} hob die Wirkung wieder auf.

Diastolischen Herzstillstand beim Frosch mit Thoraxfenster bewirkte die Injektion von 0,3 - 0,4 mg Muscarinchlorid pro kg intralymphal.

3. Serologisches Nachweisverfahren

Seit vielen Jahren sind blutkörperchenaffine Substanzen der höheren Pilze bekannt.

Die hämolytischen und hämagglutinierenden Eigenschaften der Giftpilze lenkten die Aufmerksamkeit besonders auf sich.

a) Hämolsine

KOBERT entdeckte im Jahre 1891 als erster die hämolytischen Eigenschaften wässriger Extrakte von Amanita phalloides.

Er nannte dieses Hämolysin Phallin und rechnete es zur Gruppe der Toxalbumine. Es wirkte auf Rinderblutkörperchen bis zu einer Verdünnung von 1: 125 000 rasch auflösend. ABEL und FORD untersuchten es an den Erythrocyten verschiedener Tierarten und des Menschen, wobei es je nach Tierart in unterschiedlicher Stärke wirkte. Offenbar sind am Stroma der empfindlichen Erythrocyten besondere Rezeptoren für das Hämolysin vorhanden, die den unempfindlichen fehlen.

Das Toxin erwies sich als thermolabil, wurde durch 1/2stündiges Erwärmen auf 65-70°C zerstört und als sehr empfindlich gegenüber verdünnten Säuren und Alkalien und die Einwirkung von Proteinase, wie Pepsin, Trypsin (FORD 1913). Auf Grund seiner antigenen Eigenschaften konnten Tiere dagegen immunisiert werden (RADAIS und SARTORY, RABE). Das Antihämolysin von Kaninchen und besonders von Pferden ist hochwirksam.

Die gleichen Hämolysine wurden in weiteren Amanitaarten und in vielen anderen Pilzen, auch in eßbaren, gefunden (FORD 1907, FRIEDBERGER und BROSSA, STEIDLE 1932 u.a.). Dagegen können giftige Pilze hämolysinfrei sein, wie z.B. Amanita muscaria. Es besteht offenbar kein Zusammenhang zwischen dem Hämolysingehalt und der Toxizität eines Pilzes.

b) Hämagglutinine

Hämagglutinine fand FORD 1906 zuerst bei Amanita solitaria, dann bei Amanita muscaria. Die Agglutinine sind wasserlöslich und durch Alkohol fällbar, ohne daß sie dadurch danaturiert werden. Über ihre chemische Natur ist noch wenig bekannt. FORD 1913 hält sie für Glykoside, RABE für Eiweißkörper. Bei den Agglutininen kann man im Gegensatz zu den Hämolysinen thermolabile und thermostabile unterscheiden (FORD und SHERRICK).

STEIDLE untersuchte 1931 32 Pilzarten der Ordnungen Hymenomyceten und Gastromyceten vergleichend auf ihren Gehalt an Hämolysinen und Hämagglutininen mit Blutkörperchen von Hammel und Rind. KRÜPE prüfte 1954 die Agglutination menschlicher Erythrocyten verschiedener Blutgruppen und tierischer Blutzellen durch Extrakte (1,5 g frischer Pilzbrei + 6 ml 0,85 %ige Kochsalzlösung) von 32 unterschiedlichen Pilzarten.

Bei diesen Experimenten stellten sich deutliche Differenzen der hämagglutinierenden und hämolysierenden Eigenschaften der einzelnen Pilze, manchmal sogar innerhalb einer Gattung heraus.

c) Methode zur Unterscheidung eßbarer und giftiger Pilze auf Grund ihrer hämolytischen und hämagglutinierenden Eigenschaften

Verwandte man bisher die "Phytagglutinine" vor allem zur spezifischen Agglutination menschlicher Blutkörperchen verschiedener Gruppen und zur Unterscheidung menschlichen Blutes von tierischem (RASZEJA 1964), so wies ebenfalls RASZEJA 1965 auf die Möglichkeit hin, dieses Phänomen zur Differenzierung giftiger und eßbarer Pilze heranzuziehen.

Er untersuchte die hämolysierenden und hämagglutinierenden Eigenschaften der Pilze auf folgende Weise:

Frischgesammelte Fruchtkörper wurden - Hüte und Stiele getrennt - bei 30 - 40°C zwei Tage lang getrocknet und dann zu Pulver zerrieben. Daraus wurde mit physiologischer Kochsalzlösung ein Extrakt im Verhältnis 1:10 hergestellt. Der Extrakt wurde unter öfterem Schütteln bei einer Temperatur von 37-40°C drei Stunden lang aufbewahrt, zentrifugiert, und die Flüssigkeit oberhalb des Bodensatzes zu den Untersuchungen benutzt. Die hämagglutinierenden bzw. hämolysierenden Eigenschaften des Extraktes wurden

an einer 2 - 3 %igen Suspension von menschlichen Blutkörperchen der Gruppen O, A₁ und B, sowie von Ochsen- Schweine-, Hammel- und Pferdeblutkörperchen geprüft. Zur Bestimmung des Titters der Agglutinine und Hämolysine wurde der Extrakt in geometrischer Reihenfolge verdünnt.

RASZEJA stellte nun 19 der populärsten Pilze (7 giftige, 2 ungenießbare und 10 eßbare) auf Grund ihrer äußeren Ähnlichkeit, sowie der daraus resultierenden tragischen Verwechslungen beim Sammeln, in sechs Gruppen zusammen. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 6 zu entnehmen.

Es geht daraus hervor, daß sich bei der Mehrzahl der Gruppen die Extrakte aus eßbaren und giftigen Pilzen auf Grund ihrer "serologischen" Eigenschaften unterscheiden. Diese blutkörperchenaffinen Eigenschaften besitzt sowohl der Hut als auch der Stiel der Fruchtkörper. Bei weiteren Versuchen stellte sich heraus, daß die Hämolysine bei einer Erwärmung des Extraktes auf 60°C, die Agglutinine dagegen bei 80°C, und einige erst beim Kochen vernichtet werden.

Außerdem wurden die Pilzfragmente durch Beifügung von Magensaft 15 Minuten, 2 Stunden und 24 Stunden lang "verdaut". Es ergab sich, daß in Pilzen, die einer längeren Einwirkung von Magensaft ausgesetzt waren, keine "serologisch" aktiven Substanzen mehr vorhanden waren.

Diese Substanzen blieben nur bis zu einer Einwirkungszeit von 15 Minuten, selten bis zu 2 Stunden erhalten, wenn die Pilzstückchen möglichst unzerkleinert waren.

Bemerkung zu Tab. 6 (S.91): Die Ziffern mit vorgesetztem Buchstaben "h" bezeichnen den reziproken Titer der Hämolysen, die übrigen Ziffern bezeichnen den reziproken Agglutinationstiter.

	Name der Pilzart	Teil d. Frucht- körpers	Blutkörpersuspension						
			0	A ₁	B	Otse	Schwein	Schaf	Pferd
1.	<i>Amanita phalloides</i>	Hut	h128	h128	h128	—	h1	h1	h1
		Stiel	h64	h64	h64	—	—	—	—
	<i>Amanita citrina</i>	Hut	—	—	—	—	—	—	—
		Stiel	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Agaricus campestris</i>	Hut	4	2	4	—	2	2	64
		Stiel	4	2	4	—	1	1	64
	<i>Agaricus silvicola</i>	Hut	—	—	—	—	—	—	—
		Stiel	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Lepiota procera</i>	Hut	—	—	—	—	—	—	—
		Stiel	—	—	—	—	—	—	—
2.	<i>Russula aeruginea</i>	Hut	—	—	—	—	—	—	—
		Stiel	—	—	—	—	1	—	4
	<i>Tricholoma equestre</i>	Hut	—	—	—	—	—	—	—
		Stiel	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Amanita pantherina</i>	Hut	2	1	1	—	—	1	1
		Stiel	—	—	—	—	—	—	—
	<i>Amanita muscaria</i>	Hut	512	64	256	—	1	1	32
		Stiel	64	16	32	—	—	—	4
	<i>Amanita rubescens</i>	Hut	2h8	2h8	2h8	2h8	2h8	2h8	2h8
		Stiel	—	—	—	—	—	—	—
3.	<i>Lactarius torminosus</i>	Hut	32	32	32	1	8	8	64
		Stiel	8	8	8	—	4	4	16
	<i>Lactarius rufus</i>	Hut	—	—	—	—	—	—	8
		Stiel	—	—	—	—	—	—	8
	<i>Lactarius deliciosus</i>	Hut	h2	h2	h2	h2	h2	h2	h2
		Stiel	2	2	2	—	2	1	32
4.	<i>Clitocybe dealbata</i>	Hut	—	—	—	—	—	—	—
		Stiel	—	—	—	—	h2	h2	—
	<i>Marasmius oreades</i>	Hut	1	—	4	2	4	2	1
		Stiel	4	1	16	4	16	8	1
5.	<i>Nematoloma fasciculare</i>	Hut	—	—	—	—	—	—	—
		Stiel	h2	h2	h2	h2	h2	h2	h2
	<i>Armillariella mellea</i>	Hut	—	—	—	—	—	—	—
		Stiel	—	—	—	—	—	—	—
6.	<i>Rhodophyllus sinuatus</i>	Hut	8	8	8	8	8	8	8
		Stiel	2	2	2	2	2	2	2
	<i>Boletus edulis</i>	Hut	32	32	32	2	32	16	64
		Stiel	8	8	8	1	16	4	16
	<i>Agaricus campestris</i>	Hut	4	2	4	—	2	2	64
		Stiel	4	2	4	—	1	1	64

Tab. 6: Hämagglutinierende und Hämolytische Eigenschaften von Extrakten aus Hüten und Stielen giftiger und essbarer Pilze nach Einteilung in Gruppen 1 - 6 (nach RASZEJA 1965).

4. Botanischer Nachweis

Am sichersten gelingt die Diagnose einer Pilzvergiftung durch den pharmakognostischen Nachweis des aufgenommenen Pilzes. Unter günstigen Bedingungen stehen einem hierzu Abfälle der rohen Pilze oder Reste des Gerichtes zur Verfügung. Meist wird der Nachweis aus dem Inhalt des Magen-Darmtraktes, wie Erbrochenem, Magenspülflüssigkeit und Stuhl zu führen sein.

a) makroskopische Untersuchung

Makroskopisch werden Pilze an den morphologischen Merkmalen, wie Größe und Form des Hutes (kegelig, spitz, flach) und des Stieles (gedrungen, schmal, an der Basis knollenförmig), Reste der Hüllhaut = Velum universale bzw. partiale (Warzen, Manschette, Ring, Scheide), Ausbildung des Fruchtlagers = Hymenium (Lamellen, Röhrenfutter), Befestigung der Lamellen am Stiel (frei, angeheftet, ausgebuchtet, herablaufend) und Farbe von Oberfläche, Fleisch, Fruchtlager bzw. Verfärbung derselben nach dem Pflücken, durch Liegenlassen und beim Zubereiten, bestimmt. Ist diese Bestimmung schon bei einem vollständigen Exemplar des Pilzes infolge des enormen Artenreichtums und der Variation dieser Merkmale innerhalb einer Art je nach Alter, Standort, Jahreszeit, Boden- und Wetterbedingungen selbst für den Erfahrenen sehr mühsam, um wieviel schwieriger erscheint es dann erst, wenn man sie durch die rasch eintretenden Zersetzungs Vorgänge oder durch die Zubereitung völlig verändert aussehenden Pilze, bzw. deren Bruchstücke zur Verfügung hat, die meist keine charakteristischen, sichtbaren Merkmale mehr aufweisen.

b) mikroskopische Untersuchungen

Mikroskopisch kann man zuweilen auch aus kleinsten Fragmenten die Bestimmung eines Pilzes nach Klasse, Ordnung, Familie und Art durchführen.

aa) Erkennung aus dem spezifischen Pilzgewebe

Die Pilze sind aus schlauchförmigen ein- oder mehrzelligen (septierten) Pilzfäden = Hyphen aufgebaut, die sich mehr oder weniger stark zu einem Geflecht = Mycel verbinden. Diese Verflechtung kann zuweilen so eng sein, daß der Eindruck von parenchymatösem Gewebe = Pseudoparenchym (GASSNER) erweckt wird.

Dieser Aufbau, auch des Fleisches der Fruchtkörper, ist so typisch, daß man unter dem Mikroskop ohne weiteres die Diagnose "Pilzgewebe" stellen kann.

Eine weitere Differenzierung der einzelnen Species ist jedoch nur bei der Familie der Russulaceae (GAUMANN 1964) oder Lactariaceae (LINDAU) mit den Gattungen Lactarius = Reizker und Russula = Täublinge wegen der abweichenden Struktur ihres Fleisches möglich. Dieses ist nämlich körnig und brüchig, nicht faserig wie bei den konventionellen Hutpilzen, weil in ihm Bündel von zarten Hyphenelementen mit Nestern von angeschwollenen, nahezu isodiametrischen Zellen, sogenannten Sphaerocysten abwechseln = asterosporaler Bau des Fruchtfleisches (MALENCON). Im Mikroskop sieht man zwischen den langen miteinander verflochtenen Hyphen gruppenförmig angeordnete, große, rundliche Rosettenzellen, zwischen denen Milchröhren verlaufen, die jedoch nur bei den Reizkern Milchsaft führen. (GASSNER)

bb) Erkennung aus der Anordnung des Fruchtlagers=Hymenium

Die Pilze bilden ihre Fortpflanzungsmittel, die Sporen (s.u.), in gewissen Bezirken ihres Fruchtkörpers, dem Fruchtlager = Hymenium. Dieses kann mannigfach gelegen sein, so daß man dadurch wiederum einzelne Ordnungen voneinander differenzieren kann. Entweder es ruht im Innern der Fruchtkörper (z.B. Trüffeln, Boviste) oder offen an der Außenseite (z.B. Morcheln, Lorcheln) bzw. Unterseite des Hutes. Zu letztgenannter Ordnung zählt die für uns wichtigste

Gruppe der Hymenomyceten = Hautpilze. Sie zerfallen in die Familie der Blätterpilze = Agaricales, deren Fruchtlager die Oberseite von Lamellen bedeckt und die Familie der Röhrlinge = Boletaceae, die ihr Hymenium in einem fleischigen Röhrenfutter tragen.

cc) Erkennung aus den Sporen

Als Verbreitungs- und Fortpflanzungsmittel dienen den Pilzen die Sporen. Die Art ihrer Entstehung, besonders aber charakteristische Merkmale ihres Äußeren sind für die Klassifizierung und mikroskopische Identifizierung der Pilze von großer Wichtigkeit.

Adalbert v. RICKEN gab im Jahre 1911 einen Text- und Bildband über "die Blätterpilze" heraus, von denen letzterer auch wunderschöne, fast plastisch deutliche Abbildungen der verschiedenen Sporen enthält, auf die hiermit verwiesen sei. In der Einleitung zu Band I schreibt er: "Da am ganzen Pilz nichts so konstant ist wie die Farbe des Sporenstaubes, die Form und Größe der Sporen, so läßt sich leicht ermessen, welch große Bedeutung der Würdigung derselben bei Festlegung als auch bei der Bestimmung einer Art, aber auch für die verwandtschaftlichen Beziehungen der Arten untereinander zukommt".

Art der Sporenbildung

Nach Art der Sporenbildung werden die beiden großen Untergruppen der höheren Pilze unterschieden:

Die Schlauchpilze = Ascomyceten entwickeln ihre Sporen = Ascosporen durch Abschnürung in schlauchförmige Sporenbehälter = Asci, die palisadenförmig angeordnet im Fruchtlager stehen. Hierzu gehören als bekannte Speise- oder Giftpilze die Trüffeln, Morcheln, Lorcheln und Becherlinge. Erkennt man unter dem Mikroskop Sporen, die in Schläuchen angeordnet sind, so kann man eine große Anzahl anderer Pilze ausschließen. Eine weitere Einschränkung erlaubt

die Zahl der im Ascus befindlichen Sporen, die bei manchen Arten vier (Trüffel), bei anderen acht (Morchel, Lorchel) beträgt.

Die meisten unserer Speise- und Giftpilze fallen aber unter die Unterklasse der Ständerpilze = Basidiomyceten, die ihre Sporen = Basidiosporen exogen auf ebenfalls palisadenförmig angeordneten, oft keulenförmigen, einzelligen Ständern = Basidien bilden. Die Sporen sitzen auf kleinen Stielchen = Sterigmen, meist vier, bei manchen Arten zwei an der Zahl.

Charakteristische Merkmale der Sporen

Die Sporen sind meist einzellige Bildungen und von einer mehr oder minder dicken "chitinösen" Membran eingeschlossen, die oft aus mehreren Schichten besteht, dem Endospor, Mesospor, Epispor (der eigentlichen Wand- enthält eventuell Farbe und Ornamentierung), Exospor und Perispor (GAUMANN 1964 nach Loquin 1943, R.HEIM 1958).

An der dünnsten Stelle der Membran befindet sich der Keimporus = Papille. Außerdem zeigen sie zuweilen noch Anhängsel des Hilums, eine sogenannte Appendix.

Die Sporen der einzelnen Pilzarten unterscheiden sich nach Form (rund, elliptisch, länglich, spindel-, bohnen-, sternförmig eckig), Größe (3 - 20 - 40 μ), Farbe (alle Schattierungen von farblos-hyalin bis dunkelbraun und schwarz) und Oberflächenstruktur (glatt, ornamentiert, stachelig). Andererseits sind diese Merkmale bei jeder einzelnen Pilzart in reifem Zustand ausreichend konstant, also unveränderlich und festwertig (ZEITLMAYR).

So ermöglicht ihre Identifizierung bei weitem sicherer als andere veränderliche Kennzeichen eine Pilzdiagnose.

A. HOHENESTER wies 1964 auf die Bedeutung des "Sporennachweises in der Diagnose von Pilzvergiftungen" hin und brachte einen Atlas mit den Abbildungen und Beschreibungen der Sporen der wichtigsten Pilze heraus (s. Tab. 7). CANFORA verfütterte 1962

zwei eßbare und zwei giftige Pilze in gekochtem Zustand an vier Hunde und bewirkte damit den Tod des einen Hundes und gastroenteritische Erscheinungen bei den anderen. Er untersuchte den Kot der am Leben gebliebenen Tiere auf Pilzsporen im Abstand von wenigen Stunden bis zu 48 Stunden und den Inhalt des Enddarms des verstorbenen Tieres sofort nach dem Tod und in jedem Monat bis 18 Monate nachher. Dabei konnte er feststellen, daß die Pilzsporen weder durch Kochen noch durch die Magen- Darmsäfte zerstört werden. Die im Kot des vergifteten Tieres enthaltenen Sporen unterlagen den Fäulnisvorgängen erst nach etwa 18 Monaten. Die Macerationsprozesse hingegen griffen die Sporen schon nach ungefähr 10 Monaten an. Sie erleichterten jedoch während der ersten Monate nach dem Tode die Darstellung der Sporen.

Größe der Spore	farblos, weiß	rotlich	gelblich	dunkel, purpur- oder schwarz
20 µ	 Maoutancormices (Hevelia) gigas		 Tuber aestivum	 Tuber crumatum T. melanospermum
15 µ	 Morchella esculenta	 Gyromitra esculenta	 Macrolepiota procera	 Boletus erythropus, B. luridus  Boletus edulis
10 µ	 Amanita caesarea	 Tricholoma sulphureum	 Amanita muscaria	 Amanita caesarea
	 Russula emetica	 Tylopilus felleus	 Boletus satanas	 Inocybe patouillardi
	 Dermocybe	 Scleroderma aurantium		
5 µ	 Amanita phalloides	 Amanita rubescens	 Marasmius wotchkoi	 Tricholoma parvum
	 Cantharellus cibarius	 Rhodophyllus sinuatus	 Inocybe napipes	
	 Lycopodium	 Russula vesca	 Russula quietii	 Lactarius torminosus
	 Lactarius deliciosus			
3 µ	 Amanita muscaria	 Tricholoma rufum	 Tricholoma flavovirens	 Agaricus
	 Hygrocybe aurantiaca	 Clitocybe nebularis	 Tricholoma terreum	 Russula
2 µ	 Tricholoma portentosum	 Clitocybe dealbata	 Clitocybe verucata	 Calocybe georgii
	 Clitocybe rivulosa			

Abbildung der Sporen der wichtigsten Pilze (nach H. G. Kuhn, 1954).
Größe der Spore (nach H. G. Kuhn, 1954).

VI. Forensisch-toxikologische Bedeutung der bekannten Nachweisverfahren zur Aufklärung von Pilzvergiftungen

1. Bedeutung der chemisch-toxikologischen und physiologischen Nachweisverfahren

Betrachtet man die Empfindlichkeit dieser Nachweismethoden (s. Tab. 3 u. Tab. 5), so müßte es doch möglich sein, die Giftstoffe auf chromatographischem, spektrophotometrischem oder physiologischem Wege nicht nur in den Pilzen, sondern auch in den zum Nachweis einer Intoxikation zur Verfügung stehenden Asservaten, nämlich Erbrochenem, Magenspülflüssigkeit, Stuhl, bzw. bei letalem Ausgang Magen-Darminhalt und Körpergewebe (Organe) nachzuweisen. In der gesamten gesichteten Literatur fand sich jedoch nur ein Fall beschrieben, bei dem es gelang, den Verdacht einer Knollenblätterpilzvergiftung auf Grund des chemisch-toxikologischen Nachweises zu sichern (s. u.). Welche Schwierigkeiten stehen dem also gegenüber?

a) Zur Aufklärung einer Knollenblätterpilzvergiftung

Bei der Knollenblätterpilzvergiftung werden wegen der hohen Toxizität der Wirkstoffe nur geringe Mengen der Gifte aufgenommen. Dazu kommt die typische lange Latenzzeit. Bis zum Auftreten der ersten Krankheitserscheinungen und somit zur Fragestellung einer Diagnose, bzw. einem erforderlichen Vergiftungsnachweis ist der Großteil der Toxine bereits vom Körper resorbiert und in den Körperflüssigkeiten und Organen verteilt. Außerdem kommt es als erstes Symptom hier fast regelmäßig zu heftigem Erbrechen und "choleraartigen Stuhlentleerungen", so daß bis zum Eintreffen des Arztes bzw. zur Klinikaufnahme ein weiterer erheblicher Anteil der noch im Magen und Darm vorhandenen Gifte verloren geht.

Bei letalem Ausgang der Intoxikation - meist nach 3-5 Tagen - bleibt dann noch die Möglichkeit der Isolierung und Identifizierung der Wirkstoffe aus den Körperorganen.

ABUL HAY et al. beschrieben 1963 einen derartigen positiven Nachweis der Toxine aus der Leber, auf den hier, da er, soweit bekannt, in der Literatur einmalig erwähnt ist, etwas genauer eingegangen wird.

Ein 8-jähriger Knabe wurde, angeblich nach einem Sturz vom Rade, mit Erbrechen und cerebralen Erscheinungen ins Krankenhaus eingewiesen. Er starb am 4. Tage nach der Aufnahme unter der Vermutungsdiagnose: Contusio cerebri. Da sich hierfür bei der Obduktion kein Anhalt ergab, und rückblickend auch nach dem klinischen Verlauf eine Vergiftung in Betracht gezogen werden mußte, forschte man anamnestisch weiter. Schließlich stellte sich heraus, daß der Junge vor seiner Erkrankung "wildgewachsene Pilze" gegessen hatte. Über den Zeitpunkt der Einnahme war nichts bekannt. Nun lag, vor allem auch auf Grund des pathologisch-anatomischen Befundes, der Verdacht einer Knollenblätterpilzvergiftung nahe.

Deshalb versuchte man eine toxikologische Analyse des Gewebes. 400 g Leber wurden auf die in der Arbeitsanleitung S. 79 angegebenen Weise extrahiert. Der gereinigte Extrakt gab im UV -Spektrum ein Maximum bei 290 m μ und ein Minimum bei 265-270 m μ . Es wurde kein Absorptionsmaximum über 300 m μ gefunden.

Auf dem Papierchromatogramm zeigten sich nach Besprühen mit methanolischem Zimtaldehyd in Salzsäureatmosphäre ein intensiv violetter Fleck bei Rf = 0,2 und ein schwach blauer bei Rf = 0,4 - 0,51, ein weniger deutlicher bei Rf = 0,2 und ein schwach blauer bei Rf = 0,68.

Beim Vergleich dieser Resultate mit der von O. und Th. WIELAND 1959 angegebenen Tabelle zeigt das UV.-Spektrum die Anwesenheit von Phalloidin und Phalloin an. Die chromatographischen Ergebnisse erhärten deren Anwesenheit und sprechen außerdem für die von β -Amanitin und möglicherweise α - und γ -Amanitin.

ABUL HAY glaubt, durch diese Ergebnisse ermutigt, daß man in Zukunft tödliche Knollenblätterpilzvergiftungen durch den Nachweis aller Toxine aus der Leber aufdecken könne.

Demgegenüber bezeichnet LE BRETON 1965 den Nachweis einer tödlichen Pilzvergiftung als das undankbarste Gebiet der Tätigkeit eines Chemikers und Toxikologen.

Er versuchte bei vier letalen Intoxikationen durch *Amanita phalloides* die Giftstoffe auf folgende Weise aus den Organen zu isolieren und zu identifizieren:

Da infolge der schwachen Löslichkeit der *Amanita*-Toxine in Äther und Chloroform deren Nachweis mit der allgemeinen Methode der Extraktion organischer Gift nach STAS-OTTO-OGIER nicht möglich ist, verwandte er Butylalkohol als Lösungsmittel für die leicht angesäuerten in Äthylalkohol aufbewahrten Organe. Durch mehrere aufeinanderfolgende Destillationen bei Unterdruck blieb zuletzt ein halbflüssiger Rückstand. Wenn die Pilze ungekocht gegessen wurden, so kann man durch dreimalige Extraktion mit Butylalkohol das Phallin isolieren, daß man durch seine starke hämolytische Wirkung bei intravenöser Injektion an Mäusen nachweisen kann.

Der halbflüssige Rückstand wird nun mit Ammoniak alkalisiert und nochmals zweimal mit Butylalkohol extrahiert. Nach dessen Verdunstung bleiben Phalloidin und die Amanitine zurück. Zur Identifizierung verwandte er das UV-Spektrum und die toxikologische Wirksamkeit an der weißen Maus. Bei allen vier Versuchen konnte er kein Toxin nachweisen.

Nach LE BRETON scheint es nicht an den angewandten Methoden der Extrahierung und Identifizierung zu liegen, daß es gleichsam unmöglich ist, einen chemischen oder physiologischen Beweis für die Diagnose einer Knollenblätterpilzvergiftung zu erbringen. Er stellt folgende Hypothese auf:

Nehmen wir an, ein Erwachsener nimmt 10 mg der Toxine von *Amanita phalloides* auf, die für eine Vergiftung ausreichen. Nach den Kenntnissen, die wir über die Aufteilung resorbierter Gifte im Körper haben, kann man schätzen, daß ihr Anteil in den Organen und in der Muskelmasse je die Hälfte beträgt. In den gesamten Organen finden sich folglich nur 5 mg dieser Cyclopeptide, ungefähr 1 mg/kg. Da gewöhnlich die Extraktion organischer Gifte aus 500 g Organmaterial geführt wird, können nur 0,5 mg der toxischen Substanzen ins Auge gefaßt werden. Räumt man ein, daß die Ergiebigkeit einer Isolierung von in so geringer Konzentration vorhandenen Substanzen aus Proteiden und Lipiden 50 % nicht überschreitet, dann werden die toxikologischen Arbeiten mit einem Rückstand beendet, der 1/4 mg der Giftstoffe enthält. Muß man, z.B. um ein Spektrum zu erhalten, mit der Reinigung etwa auf papierchromatographischem Wege noch weiter fortfahren, sind neue Verluste zu befürchten.

Die theoretisch erwogenen 1/4 mg könnten durch die oben angegebenen Methoden noch nachgewiesen werden. Nun werden aber durch den verzögerten Krankheitsverlauf (Tod meist erst nach 3-5 Tagen) die Wirkstoffe zum Teil durch die Stoffwechselvorgänge im Körper zerstört, zum Teil durch die Ausscheidung oder die Therapie (z.B. Blutaustauschtransfusionen, Hämodialyse) entfernt.

LE BRETON schließt seine Erörterungen mit der wenig ermutigenden Aussicht für die Diagnose der Knollenblätterpilzvergiftung post mortem auf Grund einer toxikologischen Analyse:

"Im Endeffekt bleibt die Diagnose einer Knollenblätterpilzvergiftung eine klinische Diagnose, denn die toxischen Bestandteile wirken in so geringen Dosen und ziehen einen verzögerten Tod nach sich, sodaß sie nur ausnahmsweise

in Extrakten, die aus den gesamten Organen gemacht würden, gefunden werden könnten. Aber wir wissen alle, daß sich diese Bedingungen niemals realisieren lassen".

b) zur Aufklärung einer Muscarinvergiftung

In der durchgeschauten Literatur fanden wir keinen Vergiftungsfall beschrieben, bei dem der chemisch-toxikologische oder physiologische Nachweis des Muscarins aus Pilzresten oder sonstigen Asservaten durchgeführt wurde. Wie wir bereits bei der Angabe des Verfahrens zum Nachweis aus den Pilzen erwähnten (s. S. 80), ist die Identifizierung des Muscarins durch die mühsame Trennung vom Acetylcholin und besonders vom Cholin sehr schwierig. Diese Substanzen würden durch ihr chemisch und pharmakologisch ähnliches Verhalten falsche Ergebnisse bedingen. Zudem spricht der Verlauf der Vergiftung dafür, daß das Muscarin vom Körper innerhalb weniger Stunden ausgeschieden bzw. enzymatisch abgebaut wird (s.S.35).

Der toxikologische Nachweise von Muscarin bei einer tödlichen Vergiftung wird weiterhin dadurch erschwert, daß in den Leichen bald Stoffe ("Leichenmuscarin") entstehen (BRIEGER), die gleiche chemische Eigenschaften zeigen wie das Muscarin.

FÜHNER 1935 betont, daß der biologische Nachweis des Muscarins am Froschherzen keinerlei forensisch-toxikologische Bedeutung habe, und die Diagnose bei einer Vergiftung auf andere Weise gestellt werden müsse.

c) zur Aufklärung einer Lorchelvergiftung

KAMPF gelang 1954 der chemisch-toxikologische Nachweis einer nach Vorgeschichte, Krankheitsverlauf und Sektionsbefund wahrscheinlichen Lorchelvergiftung, die mehr als 48 Stunden nach der Mahlzeit zum Tode führte. Die toxi-

kologische Untersuchung des Magens und Dünndarms brachte kein Ergebnis. Aus dem Dickdarm wurden zahlreiche bis linsengroße Stückchen isoliert, die sich bei der mikroskopisch-botanischen Untersuchung als Lorchelreste herausstellten. Der Dickdarminhalt wurde entsprechend der auf Seite 83 angegebenen Vorschrift aufgearbeitet. Das farblose Destillat wurde mit Selenigschwefelsäure, Phosphorwolfram-Phosphormolybdänsäure und Fuchsin-schwefliger Säure versetzt, wobei sich in allen Fällen typische Farbreaktionen ergaben. Die von REIF angegebenen Proben fielen also positiv aus. Kontrolldestillate vom Dickdarminhalt anderer Leichen zeigten die genannten Reaktionen nicht. Bei der von KÄMPF berichteten Vergiftung gaben die makroskopisch sichtbaren Pilzreste im Darminhalt 1-2 Tage nach Aufnahme der Pilze nur noch ganz schwache Reaktionen. Dieser allerdings nicht für das in *Helvella esculenta* enthaltene Gift spezifische, jedoch relativ einfache chemische Test kann nach KÄMPF zum Nachweis einer Lorchelvergiftung hinzugezogen werden, wenn noch frischere Pilzreste zur Verfügung stehen. KÄMPF nennt die Proben nach REIF eine geeignete Ergänzung des mikroskopisch-botanischen Lorchelnachweises.

2. Forensisch-toxikologische Bedeutung des serologischen Nachweises.

RASZEJA 1965 betont, daß die Untersuchungen über die hämaggutinierenden und hämolytischen Eigenschaften der Giftpilze sowie der ihnen ähnlichen eßbaren Pilze neue Möglichkeiten für die Identifizierung von Pilzfragmenten schaffen. Für die Aufklärung von Pilzvergiftungen scheint die Tatsache besonders wertvoll zu sein, daß man auf diese Weise nicht nur die Extrakte aus Teilen des Hutes, sondern auch des Stieles des Fruchtkörpers differenzieren kann. Stielfragmente

sind, da sie der charakteristischen Sporen entbehren, für die mykologische Diagnostik nicht geeignet.

Da die Hämolysine und Hämagglutinine der Pilze sowohl durch Erhitzen auf 60 bis 80 Grad oder Kochen als auch durch die Einwirkung der Verdauung zerstört werden (s. S.90), könnte der "serologische" Nachweis nur bei Vergiftungsfällen Anwendung finden, bei denen sich frische, vor der Zubereitung fortgeworfene Pilzabfälle sicherstellen lassen.

Forensisch-toxikologische Bedeutung des botanischen Nachweises

Auf die Bedeutung des botanischen Nachweises bei der Diagnose bzw. zur endgültigen Sicherung einer Pilzvergiftung haben viele Autoren hingewiesen (WENDT 1855), GADAMER 1909, LOCHTE 1914, FÜHNER 1935, WASICKY 1937, NEUHANN 1941, GEBNER 1954, CANFORA 1962, HOMANN 1963, HOHENESTER 1964, LE BRETON 1965 u.v.a.).

Wie wir in Punkt V, 4,b, cc (S.94) dargelegt haben, kommt hierfür vor allem die Identifizierung der Pilze auf Grund der charakteristischen, unveränderlichen, morphologischen Eigenschaften ihrer Sporen in Frage.

Da der Nachweis der Pilzsporen ohne komplizierte Versuchsanordnungen - es werden unvorherbehandelte Objektträgerausstriche betrachtet - zu führen ist, und nach Meinung vieler obengenannter Autoren ein sicheres Ergebnis erzielt, so überrascht es eigentlich, daß man in der Literatur derartige gelungene Nachweise nur selten erwähnt findet, besonders wenn man sich auf eine Identifizierung der Pilze aus dem Magen-Darminhalt beschränken mußte.

WASICKY berichtet 1937 von einer tödlichen Vergiftung,

bei der sich im Erbrochenen und im Magen-Darminhalt nur Reste des Steinpilzes nachweisen ließen.

KAMPF fand 1954 im bei der Sektion entnommenen Dickdarminhalt Stückchen, die Lorchelsporen in einer typischen Anordnung in Asci zeigten.

Weitere Sicherungen der Diagnose durch Sporennachweis im Inhalt des Verdauungstraktes post mortem beschrieben JAROSCH und STITZ 1958 bei einer Knollenblätterpilzvergiftung, BSCHOR und MALLACH 1963 bei zweien von drei Kremplingvergiftungen und HERBICH et al. 1966 bei einer Vergiftung durch den Grünbüscheligen Schwefelkopf. Meist wurden derartige Untersuchungen versäumt, bzw. zeigten sie keine Ergebnisse.

So schreibt RASZEJA 1960 über 19 obduzierte Fälle, bei denen die Diagnose einer Intoxikation durch Amanita phalloides gestellt worden war: "Nur in einem Fall wurden im Inhalt des Magen- Darmkanals Reste unverdauter Pilze gefunden, welche bei mikroskopischer Untersuchung charakteristische Sporen aufwiesen. In sieben anderen Fällen wurden Reste des genossenen Pilzgerichtes sichergestellt und in diesen Reste von Amanita phalloides festgestellt: Obwohl die Auffindung von Pilzresten im Magen- Darmkanal sowie in den Überresten des Gerichtes in der Mehrzahl der Fälle negativ verlief, . . ."

Diese negativen Ergebnisse erklären sich durch die meist verhältnismäßig geringe Anzahl der in den zu untersuchenden Materialien enthaltenen Pilzsporen.

Die zu Speisezwecken bevorzugten jungen Pilze haben nur wenig ausgebildete Sporen. Weiterhin wird ein Großteil von ihnen beim Putzen der Pilze mit dem reifen Fruchtfutter entfernt. Weitere Verdünnungen des Sporengehaltes treten im Magen und Darm auf, besonders wenn es infolge der durch die Vergiftung hervorgerufenen gastroenteritischen

Erscheinungen zu dauerndem Erbrechen und häufigen Stuhlentleerungen kommt, bevor Material zur Untersuchung asserviert werden konnte.

Beschränkt man sich bei der Sporensuche auf einfache Ausstriche, so sind meist Untersuchungen zahlreicher Präparate nötig, um Sporen zu finden, besonders um die Sporen aller im Gericht befindlichen oder aufgenommenen Pilze nachzuweisen.

Zudem sind die Sporen durch die störenden Begleitmaterialien schlecht zu erkennen.

Wenig bekannt ist über eventuelle morphologische Veränderungen der Sporen durch Kochen, Trocknen und die Einflüsse der Verdauung.

A.HOHENESTER schränkt die Bedeutung des "Sporennachweises in der Diagnose von Pilzvergiftungen" ein, indem er betont, daß man negative Befunde bei den unvorherbehandelten Objektträgerausstrichen aus Mageninhalt und Stuhl nicht überbewerten dürfe, da wir über die Erhaltungsfähigkeit und Widerstandskraft der Sporen, vor allem ihrer Farbe und Oberflächenstruktur nur ungenügend informiert seien.

C. Experimenteller Teil

Der Nachweis der Pilzsporen erfolgte bisher durch mikroskopische Untersuchung einfacher Ausstriche aus den Untersuchungsmaterialien.

Im Folgenden sollen Versuche zur Entwicklung und Prüfung eines zweckmässigeren Verfahrens beschrieben werden, das geeignet ist, Pilzsporen bei Vergiftungsfällen nachzuweisen.

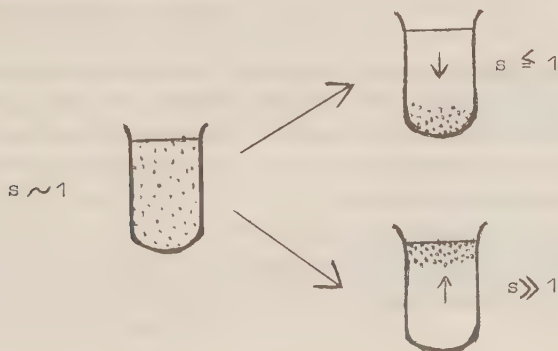
Mit Hilfe dieses Verfahrens sollen in den zur Untersuchung gelangenden Materialien wie Pilzgerichten, Erbrochenem, Mageninhalt und Stuhl die Sporen angereichert und gleichzeitig von störenden Begleitmaterialien befreit werden.

I. Auffindung eines geeigneten Anreicherungsverfahrens

Prinzip der Methode

Auf Grund der Differenz der spezifischen Gewichte der Pilzsporen und der Flüssigkeit werden die Sporen in einer Suspension langsam oder schnell zu Boden sinken bzw. an die Oberfläche steigen. Bei annähernd gleichem spezifischem Gewicht werden die Sporen in der Flüssigkeit schweben. (S. Abb. 8)

Ausgehend von den Erfahrungen von FÜLLEBORN, der Wurmeier aus Stuhl nach Aufarbeitung in einer gesättigten Kochsalzlösung an der Oberfläche anreichert, wurden unsere Versuche mit Pilzsporen begonnen.



$s \hat{=}$ spez. Gewicht

Abb. 8: Verhalten der Pilzsporen in Flüssigkeiten

1. Anreicherung der Pilzsporen

a) Ausgangsmaterial

Die Entwicklung des Anreicherungsverfahrens wurde zuerst an einem Ausgangsmaterial durchgeführt, in dem sich die Pilzsporen in reichlicher Anzahl befanden und leicht erkennen ließen.

Außerdem wollten wir Kenntnis über die morphologischen Eigenschaften, wie Größe, Form, Farbe und Oberflächenstruktur der Sporen der wichtigsten essbaren und giftigen Pilze erhalten.

Wir verwandten wässrige Aufschwemmungen von homogenisierten Pilzen verschiedener Arten (Zucht- und Wiesenchampignons, Pfifferling, Grünling, Parasolpilz, Täublinge, Steinpilz und andere Röhrlingsarten, Fliegenpilz, grüner und weißer Knollenblätterpilz) und innerhalb der einzelnen Arten von unterschiedlicher Größe bzw. unterschiedlichem Reifezustand.

Die einzelnen Exemplare wurden zur Freisetzung der Sporen ~~zusammen~~ mit Wasser in den Mixer (Starmixgerät) gegeben und auf kleinster Stufe solange zerkleinert bis ein homogener, flüssiger Brei entstanden war. Dies benötigte im Durchschnitt eine bis zwei Minuten. Bei der mikroskopischen Untersuchung eines Tropfens fand man neben den Hyphen je nach dem Reifezustand des Pilzes mehr oder weniger zahlreiche, meist frei herumschwimmende, seltener noch auf den Basidien sitzende, charakteristische Sporen. Bei höher eingestellter Umdrehungszahl des Mixgerätes wurden die Sporen des öfteren zertrümmert oder zerschnitten.

b) Anreicherung im Bodensatz

Um erste Kenntnisse über das Verhalten der Pilzsporen in einer Suspension bzw. über ihr spezifisches Gewicht zu er-

halten, ließen wir den mit Wasser homogenisierten Pilz in kleinen Bechergläsern über längere Zeit stehen. Es bildete sich ein Bodensatz, der den Großteil der Sporen enthielt.

Eine raschere und deutlichere Trennung erzielten wir, wenn wir die Suspension einige Minuten bei mittlerer Umdrehungszahl (2 000 U/min.) zentrifugierten.

Wir entnahmen mit einem Glasstab einen Tropfen des homogenisierten Pilzmaterials und nach dem Zentrifugieren einen Tropfen der überstehenden wässrigen Phase sowie des Bodensatzes. Beim Vergleich der jeweils unter dem Mikroskop gefundenen Sporenzahl zeigte sich im Bodensatz eine fast vollständige Anreicherung.

Durch dieses Verfahren erfolgte jedoch keine Abtrennung der störenden Begleitmaterialien. Außerdem war die Entnahme eines Tropfens aus der Tiefe des Reagensglases umständlich. Beim Abdekantieren der überstehenden Flüssigkeit ging auch ein Teil der abgesetzten Sporen verloren.

Aus letztgenannten Gründen suchten wir nach einer Anreicherung der Pilzsporen an der Oberfläche einer Flüssigkeit, wo wir sie bequem und ohne Verluste zur Untersuchung abheben könnten.

c) Anreicherung an der Oberfläche

Im wässrigen Pilzhomogenisat reicherten sich die Sporen am Boden an. Für die Anreicherung an der Oberfläche benötigten wir eine Lösung mit einer Dichte erheblich größer als 1.

Hierzu verwandten wir zunächst eine gesättigte Kochsalzlösung (35 g NaCl in 100 ml H_2O - Dichte 1,3).

In einer Reihe von 10 ml - Zentrifugengläschen wurde je 1 ml des Pilzbreis mit der 10-fachen Menge der Lösung gut vermischt und dann stehen gelassen. An ihrer im Vergleich

zu anderen Gefäßen z.B. Schälchen oder Bechergläsern geringen Oberfläche reichern sich die emporsteigenden Pilzsporen intensiver an. In verschiedenen Zeitabständen, nämlich unmittelbar nach dem Vermischen, nach 1 Min., 5 Min., 10 Min., 15 Min., 30 Min., 45 Min., 1 Std., 2 Std., 4 Std., 6 Std., 8 Std., 12 Std., 16 Std., 24 Std., 36 Std., 48 Std., 3 Tagen 4 und mehr Tagen, entnehmen wir von den Oberflächen der einzelnen Gläschen mit einer rechtwinklig gebogenen Öse von etwa 0,8 cm Durchmesser aus dünnem Platin- oder Kupferdraht je 1 Tropfen und betrachteten ihn unter dem Mikroskop.

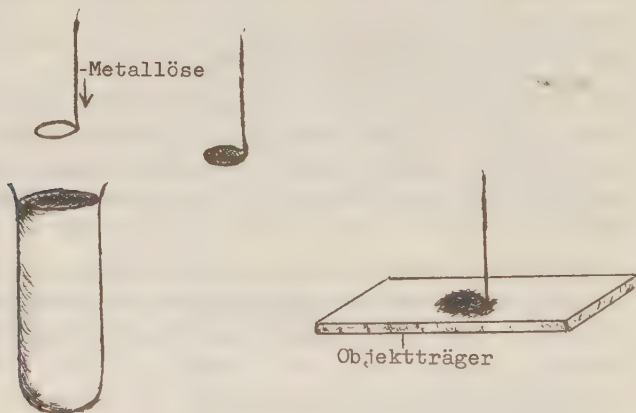


Abb.9 : Abheben der Pilzsporen von der Oberfläche einer Lösung.

Innerhalb der ersten Stunde war keine nennenswerte Anreicherung zu verzeichnen, nach 6 Stunden wurde sie deutlich, und erst nach 24 - 36 Stunden war sie nahezu vollständig. Es zeigte sich, daß die im Durchschnitt 3 - 20 μ großen Pilzsporen im Gegensatz zu den mehr als 30 μ großen Wurmeiern sehr langsam an die Oberfläche stiegen.

d) Suche nach einem geeigneten Lösungsmittel für die Anreicherung an der Oberfläche

Die langen Wartezeiten machten sich sehr störend bemerkbar. Das Wasser verdunstete, und die Salzkristalle setzten sich mit einem Teil der ihnen anhaftenden Sporen am Rand des Zentrifugenglases ab.

Wir versuchten diese Verdunstung zu verhindern, indem wir die Reagensgläser mit den Pilzsuspensionen in einer mit der gesättigten Lösung zum Teil gefüllten, verschlossenen Kammer stehen ließen.

In dieser mit Feuchtigkeit gesättigten Atmosphäre blieb der Flüssigkeitsspiegel auch noch nach Tagen unverändert.

Dennoch mußte schließlich die Verwendung gesättigter Lösungen von Kochsalz oder anderen anorganischen, auskristallisierbaren Salzen - z.B. 10%ige Zinksulfatlösung - aufgegeben werden: Ein auf den Objektträger gebrachter, mit einem Deckglas bedeckter Tropfen trocknete innerhalb kurzer Zeit ein. Dadurch schrumpften die Sporen und boten ein völlig verändertes Aussehen. Zudem störten die auskristallisierten Salze die mikroskopische Untersuchung in hohem Maße.

Bei der deshalb angestellten Erprobung organischer Lösungsmittel mit hohem spezifischen Gewicht ergaben sich neue Schwierigkeiten:

So schieden mit Wasser nicht mischbare organische Lösungsmittel (z.B. Äthylenchlorid, Dichte 1,26) aus, da sich der immer noch Wasser enthaltende Pilzbrei in seiner Gesamtheit von dem Lösungsmittel trennte und an der Oberfläche absetzte.

Ameisensäure (Dichte 1,23), die sich zwar mit Wasser vermischt, spaltete hingegen das Chitin und zerstörte dadurch die Sporenmembran. Sie veränderte das Aussehen der Pilzsporen auch noch in Verdünnungen.

Wiederholte Prüfungen anderer organischer Lösungsmittel mit einem spezifischen Gewicht von etwa 1,1 - 1,25 (z.B. Glykoll) ergaben keine befriedigende Anreicherung.

Bei all diesen Versuchen fanden wir schließlich, daß ein mit Wasser mischbare, chemisch wenig aktives, organisches Lösungsmittel hoher Dichte, wie Glycerin (Dichte 1,26), am geeignetsten ist.

Im folgenden wird nur noch Glycerin als Anreicherungsmittel verwendet.

2. Beschleunigung der Anreicherung

Leider zeigte sich aber, daß bei der Verwendung von Glycerin infolge seiner hohen Viskosität ebenfalls sehr lange Wartezeiten erforderlich waren. Eine maximale Anreicherung war erst nach 3-4 Tagen zu verzeichnen.

Um eine für unsere Zwecke befriedigende Anreicherung der Pilzsporen zu erhalten, mußten wir die Aufschwemmungen mindestens mehr als 24 Stunden stehen lassen (s. Abb. 13, S. 140). Dies erschien nicht nur sehr zeitraubend, sondern vor allem als ein großer Nachteil bei der Anwendung des Verfahrens zur schnellen Diagnose einer Pilzvergiftung für klinische Zwecke.

Wir suchten daher, die Anreicherung der Pilzsporen zu beschleunigen.

a) Beschleunigung der Anreicherung durch Verdünnung des Lösungsmittels

Um die hohe Viskosität des Lösungsmittels herabzusetzen, mischten wir das Glycerin mit Wasser in verschiedenem Verhältnis. Mit diesen Verdünnungen wurden die Anreicherungsversuche durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, daß auch bei einem Mengenverhältnis von Glycerin zu Wasser 1:1

die Anreicherung noch mehr als 24 Stunden benötigte und nicht deutlich beschleunigt war. Zudem zeigte die Anwendung dieses Gemisches infolge seiner geringeren Dichte (1,13) weit schlechtere Ergebnisse, als die Verwendung des reinen Glycerins.

b) Beschleunigung der Anreicherung durch Zentrifugieren

Stoffe mit verschiedenem spezifischen Gewicht lassen sich durch Zentrifugieren rasch voneinander trennen. Wir zentri-
fugierten die in reinem Glycerin aufgeschwemmten Pilzsporen in 10 ml - Röhren bei ansteigender Umdrehungszahl verschieden lang.

Die Anreicherung an der Oberfläche steigerte sich proportional der Erhöhung der Umdrehungsgeschwindigkeit und der Dauer des Zentrifugierens.

Bei einer Drehzahl von 5 000 U/min konnten wir bereits nach 20-minütigem Zentrifugieren eine hohe Anreicherung erzielen.

3.) Nachweis der Sporen nach Anreicherung

a) mikroskopische Betrachtung der Sporen

Wie bereits erwähnt, hoben wir die Pilzsporen zur Identifizierung mit einer rechtwinklig gebogenen Öse von etwa 0,8 cm Durchmesser aus dünnem Kupfer- oder Platindrath von der Oberfläche der Flüssigkeit ab, brachten den zwischen den Rändern ausgespannten Tropfen auf einen Objektträger und bedeckten ihn mit einem Deckgläschen.

Wenn man Objektträger und Deckgläschen in einem Gemisch aus Alkohol und Äther entfettet, werden sie besser benetzbar. Dadurch vermeidet man weitgehend störende Luftbläschen in den Präparaten.

Wir betrachteten die Sporen unter dem Mikroskop im Durchlicht und Phasenkontrast bei 205- und 512-facher Vergrößerung. Nur zum genauen Studium ihrer Oberflächenstruktur und zur Größenmessung benutzten wir die 1280-fach Vergrößerung mit Ölimmersion.

Man muß dabei beachten, daß dunkelgefärbte Sporen im durchfallenden Licht heller erscheinen.

Eine weitere Verwischung der unterschiedlichen Sporenfärbung als wichtigem Bestimmungsmerkmal tritt dadurch ein, daß Glycerin durch Erhöhung des Brechungsindex eine stark aufhellende Wirkung zeigt. Diese kann jedoch durch den Zusatz einer geringen Menge von 0,2%iger Essigsäure herabgesetzt werden (PRIBRAM).

b) Anfärbung der Sporen

Zur Unterscheidung von anderen im Untersuchungsmaterial vorhandenen Bestandteilen, die durch Form und Größe zu Verwechslungen Anlaß geben könnten, wie z.B. Fettröpfchen, Blutkörperchen, Luftbläschen, wollten wir die Sporen anfärben.

Da der Hauptbestandteil der Sporenmembran aus Chitin besteht, verwandten wir die Methode nach ZIEHL-NEELSEN.

Nach diesem Verfahren zur Färbung säurefester Stäbchen, das bekanntlich darauf beruht, daß diese in ihrer Zellwand Fette und Wachse enthalten, die keine gewöhnlichen Anilinfarben, sondern nur Beizenfarbstoffe annehmen und dann säure-, alkali- und alkoholfest behalten, färbt man z.B. auch Chitin in Insektenschnitten (SCHÖMMER).

aa) Fixierung der Sporen

Die zur Fixierung von Bakterienpräparaten übliche Methode der Lufttrocknung mit anschliessendem mehrmaligen Ziehen durch die Flamme konnten wir nur bei Ausstrichen oder in Wasser aufgeschwemmten Sporen anwenden. Zur Fixierung der in Glycerin angereicherten Pilzsporen auf dem Objektträger kam sie infolge des hohen Siedepunktes (290°C) und der hygroskopischen Eigenschaften des Glycerins nicht in Frage. Auch Versuche, die Präparate im Brutschrank bei hohen Temperaturen oder im Vakuum zur Trocknung zu bringen, scheiterten.

Es gelang auch nicht, durch Zugabe von Gelatine oder Blutserum eine Fixierung zu erreichen, da das sich bei der Färbung wieder lösende Glycerin samt den Sporen zusammen mit dem Farbstoff vom Objektträger gespült wurde.

Schließlich brachten wir die Präparate zur Eintrocknung, indem wir den Objektträger mit einer Pinzette über die klein eingestellte Flamme des Bunsenbrenners hielten. Bei beginnender Dampfentwicklung entfernten wir das Präparat wieder, um ein Sieden des Glycerins und eine damit verbundene allzugroße Hitzeeinwirkung auf die Sporen zu vermeiden. Dies wurde solange wiederholt, bis das Glycerin auf dem Objektträger vollständig verdunstet war. Anschließend wurde der Objektträger noch einige Male bei mäßiger Geschwindigkeit durch die Flamme gezogen.

bb) Färbung nach ZIEHL - NEELSEN

Lösungen

Karbolfuchsinlösung nach ZIEHL-NEELSEN

(10,0 ml ges. alkohol.Fuchsinlösung + 5,0 ml verflüssigtes Phenol werden geschüttelt und mit 100 ml dest. Wasser verdünnt)

3 ml 25% chem. reiner Salzsäure + 100 ml 70% Alkohol
verdünnte Methylenblaulösung

(ges., alkohl.Methylenblaulösung 1:10 verdünnt)

Ausführung

1. Das fixierte Präparat wird vollständig mit der Farblösung bedeckt und über der Sparflamme eines Bunsenbrenners wiederholt bis zur Dampfbildung (nicht Aufkochen) erwärmt und dazwischen wieder abkühlen gelassen. Insgesamt läßt man die Farblösung 5 Min. einwirken.

2. Farbstoff abgießen und mit Wasser abspülen

3. Entfärben mit Salzsäure-Alkohol, bis keine roten Farbwolken mehr abgehen.

4. Abspülen mit Wasser

5. Nachfärben mit verdünnter Methylenblaulösung 1 Minute

Ergebnis

Die Sporen nahmen, soweit ihre Chitinmembran noch vorhanden war, den Farbstoff gut an und erschienen rosa bis rot auf hellblauem Grund.

Sie erwiesen sich - nach den einzelnen Arten in verschiedenem Maße - zum größten Teil als widerstandsfähig gegenüber großer Hitzeeinwirkung und wurden auch durch das drastische Färbeverfahren kaum verändert.

Sie schrumpften zwar nach Eintrocknung, zeigten jedoch, sobald sie wieder mit einem flüssigen Medium in Berührung kamen, ihre ursprüngliche Form.

II. Prüfung des Anreicherungsverfahrens

Die Anreicherungs-methode wurde zuerst am homogenisierten Pilzmaterial geprüft.

Bei der anschließenden Erprobung am Pilzgericht und Pilzstuhl wurde das Verfahren durch weiteren Ausbau an die dabei vorliegenden veränderten Bedingungen angepaßt.

1. Prüfung des Anreicherungsverfahrens am homogenisierten Pilzmaterial

Hierzu verwandten wir die auf S. 108 beschriebenen mit Wasser homogenisierten Pilze verschiedener Arten, bzw. unterschiedlicher Größe und Reifezustandes.

a) Nachweis der Anreicherung durch Vergleich der Sporenanzahl

Zum Nachweis der Anreicherung und damit zur Prüfung der Güte des Verfahrens setzten wir die Anzahl der in einem mit der Öse entnommenen Tropfen des Ausgangsmaterials enthaltenen Pilzsporen in Beziehung zu der Sporenzahl, die wir in einem von der Glycerinoberfläche abgehobenen Tropfen fanden.

Eine Auszählung der Sporen nach Art der Blutkörperchen in der Zählkammer nach Thoma oder Türk war für unsere Zwecke wenig geeignet. Der zwischen den Ösenrändern ausgespannte Tropfen ließ sich schlecht in die Zählkammer einfüllen. Zudem konnten die herumschwimmenden Sporen in der Zählkammer nicht fixiert werden. Dadurch war eine gleichzeitige Einstellung der eingeritzten Quadrate und der Sporen unter dem Mikroskop sowie eine Bestimmung der Sporenmenge pro Quadrat nicht möglich.

Wir begnügten uns bei unseren Versuchen im allgemeinen damit, die durchschnittliche Sporenzahl pro mikroskopischem Blickfeld bei den einzelnen Präparaten zu vergleichen. Um genauere Ergebnisse zu erhalten, mußten wir alle im

Präparat vorhandenen Sporen zählen.

b) Nachweis der Anreicherung durch Verdünnungen und Entfernung der Pilzsporen

Zur weiteren Prüfung des Verfahrens führten wir die Anreicherung mit wässrigen Sporenaufschwemmungen in Verdünnungsreihen bzw. durch Entfernung der Sporen durch Zentrifugieren aus und beobachteten, wie lange noch Sporen nachzuweisen sind.

So wurde z.B. der mittelgroße Hut eines reifen Fliegenpilzes mit soviel Wasser homogenisiert, daß 50 ml Pilzbrei entstanden. Hiervon wurden folgende Verdünnungen (V) angefertigt:

V₁: 1 ml Pilzbrei in 10 ml Wasser $\hat{=}$ 1 Fliegenpilz in 1/2l Wasser
V₂: 1 ml V₁ in 10 ml Wasser $\hat{=}$ 1 Fliegenpilz in 5 l Wasser
V₃: 1 ml V₂ in 10 ml Wasser $\hat{=}$ 1 Fliegenpilz in 50 l Wasser
V₄: 1 ml V₃ in 10 ml Wasser $\hat{=}$ 1 Fliegenpilz in 500 l Wasser
Zur Untersuchung gelangten je 9 ml der Verdünnungen V₁, V₂, V₃ und 10 ml der Verdünnung V₄.

Die durch Zentrifugieren im Bodensatz sedimentierten Sporen wurden in Glycerin, wie beschrieben, an der Oberfläche angereichert.

Hierbei konnten in V₃ noch reichlich (s. Abb. 14 S. 141) in V₄ vereinzelt Fliegenpilzsporen nachgewiesen werden.

Ein weiterer Versuch zeigt das Ausmaß der Anreicherung bei frei herumschwimmenden Sporen:

Ein getrockneter Steinpilz wurde mit Wasser im Mixer zur Freisetzung der Sporen homogenisiert. Durch wiederholtes Zentrifugieren wurde die Suspension soweit von den Sporen befreit, daß bei der mikroskopischen Untersuchung höchstens eine Spore in einem Tropfen gefunden werden konnte.

10 ml dieser wässrigen Lösung wurden nochmals zentrifugiert, und die restlichen Sporen aus dem nur noch geringen Bodensatz in Glycerin an der Oberfläche angereichert. Es konnten mehrere Hundert Sporen in einem Tropfen nachgewiesen werden. (s. Abb. 15 S.142)

c) Ergebnisse:

Wir stellten bei unseren Versuchen fest, daß das Ausmaß der Anreicherung vom Reifezustand des Pilzes abhing. Bei reifen Pilzen mit kräftig ausgebildetem Fruchtlager konnten wir die besten Ergebnisse erzielen. Dies war einmal durch die größere Sporenmenge bedingt. Außerdem reicherten sich die bereits von den Basidien abgestoßenen oder durch Homogenisieren von ihnen gelösten Pilzsporen beinahe vollständig an der Glycerinoberfläche an.

2.Prüfung des Anreicherungsverfahrens am Pilzgericht

Bei Verwendung eines Pilzgerichtes als Ausgangsmaterial zur Durchführung unseres Anreicherungsverfahrens mußten wir gegenüber der Verwendung von wässrigen Pilzsuspensionen mit folgenden Abweichungen rechnen:

Die Pilze und somit auch die Pilzsporen wurden gekocht. Ein Großteil der Sporen wird beim Putzen der Pilze zusammen mit dem reifen Fruchtlager entfernt.

In einem Pilzmischgericht finden sich Sporen mit unterschiedlichen morphologischen Eigenschaften.

Durch die Zubereitung wird den Pilzen eine größere Menge an Begleitmaterialien, wie Fett, Stärkekörnchen u.a. beigelegt.

a) Zubereitung des Pilzmischgerichtes

Steinpilze, Zuchtchampignons und Pfifferlinge (zusammen etwa 1 kg) wurden geputzt, gewaschen, kleingeschnitten.

und mit 60 g Fett in einem Topf ca. 20 Minuten lang weich gedünstet. Anschließend wurden sie mit 1 gehäuften EL-löffel Mehl (20 g), das in 1/2 Tasse kalten Wassers angerührt worden war, angedickt, gewürzt und mit 1/8 l saurer Sahne vermischt.

b) Untersuchung des Pilzmischgerichtes

Das Pilzmischgericht wurde auf folgende Weise untersucht: Zuerst wurden einfache Ausstriche der makroskopisch noch unterscheidbaren Pilzstückchen sowie der Pilzsoße gefärbt und ungefärbt unter dem Mikroskop betrachtet.

Anschließend homogenisierten wir je einige ml der einzelnen Pilzstückchen und des gesamten Mischgerichtes bzw. der Pilzsoße und reicherten die Sporen wie in nachfolgender Arbeitsvorschrift angegeben(s.S.121) an der Glycerinoberfläche an. Das Ausgangsmaterial wurde vor dem Aufschwemmen und Zentrifugieren in Glycerin mit Äther entfettet, und der Äther durch Auswaschen wieder entfernt. Die oberste Glycerinschicht wurde ebenfalls gefärbt und ungefärbt mikroskopisch untersucht.

c) Ergebnisse

Wir konnten feststellen, dass sich Form, Größe und Oberflächenstruktur der Pilzsporen durch das Kochen nicht verändern. Ebensowenig werden sie in ihrem Aussehen durch die Behandlung mit Äther beeinträchtigt.

Die Sporen fanden sich auch in den einfachen Objektträgerausstrichen. Bei der Untersuchung der einzelnen Pilzstückchen ließ sich zum Teil noch der Aufbau des Fruchtlagers zur Differenzierung der Pilze heranziehen (Röhrlinge - Blätterpilze).

Gegenüber den einfachen Ausstrichen zeigten die Präparate nach Anreicherung folgende Vorteile:

Eine etwa 10-fache Sporenanzahl pro Blickfeld.

Eine weitgehende Reinigung durch Abtrennung der Begleitmaterialien.

Außerdem erhielten wir in einem Präparat - insbesondere nach Anreicherung der Pilzsoße bzw. des Mischgerichtes - einen Querschnitt durch alle im Gericht befindlichen Pilzsporen. So ließen sich auch Pilze nachweisen, die nur in geringer Menge in dem Gericht vorhanden waren.

Der Größenvergleich der nebeneinanderliegenden Sporen erleichterte ihre Identifizierung.

d) Arbeitsvorschrift

Das Pilzgericht wird zur Freisetzung der Sporen mit Wasser im Mixer (Starmix) auf kleinster Stufe homogenisiert und anschließend in 10 ml-Zentrifugengläschen zentrifugiert. Das überstehende Wasser wird dekantiert bzw. mit der Wasserstrahlpumpe sorgfältig entfernt, und der Bodensatz mit der 10-fachen Menge Äther kräftig ausgeschüttelt. Nach nochmaligem Zentrifugieren (einige Minuten bei 2 000 U/min) wird die überstehende Ätherphase mit dem gelösten Fett abgesaugt. Um ein Absetzen eventuell verbleibender Ätherreste auf dem Glycerin zu vermeiden, wird der Bodensatz nochmals mit Wasser ausgewaschen. Anschliessend vermennt man ihn unter ständigem Rühren - zuerst tropfenweise - mit der 10-fachen Menge an Glycerin, und zentrifugiert die Aufschwemmung in 10 ml-Gläschen 20 Minuten lang bei höchster Umdrehungszahl (5 000 U/min).

Die mit der Öse abgehobene oberste Flüssigkeitsschicht wird auf einen Objektträger gebracht und gefärbt oder ungefärbt unter dem Mikroskop betrachtet.

3. Prüfung des Anreicherungsverfahrens am Pilzstuhl

Wie wir gesehen haben, werden die morphologischen Eigenschaften der Pilzsporen durch das Kochen nicht verändert.

Bei dem Versuch, den Sporennachweis aus dem Stuhl zu führen, mußten wir zusätzlich mit folgenden Schwierigkeiten rechnen:

Die Pilzsporen sind dem Einfluß der Magensäure und der Verdauungsfermente ausgesetzt. Über die Widerstandsfähigkeit bzw. über Zerstörung und Veränderungen der Pilzsporen im Magen-Darmtrakt beim Menschen ist noch wenig bekannt.

Die Sporen finden sich im Stuhl in weitaus geringerer Konzentration als im Pilzgericht und werden durch andere Stuhlbestandteile verdeckt.

Über die Verweildauer der Sporen im Verdauungstrakt ist uns nichts bekannt.

Bei der Erprobung unserer Anreicherungs-methode am Pilzstuhl sollte geklärt werden, ob und wie lange nach Einnahme des Pilzgerichtes sich hiermit Sporen im Stuhl nachweisen lassen.

a) Modifiziertes Verfahren zur Anreicherung der Pilzsporen aus Stuhl

Die Prüfung des Anreicherungsverfahrens wurde mit Stuhl von Personen durchgeführt, die experimentell Pilze aufgenommen hatten.

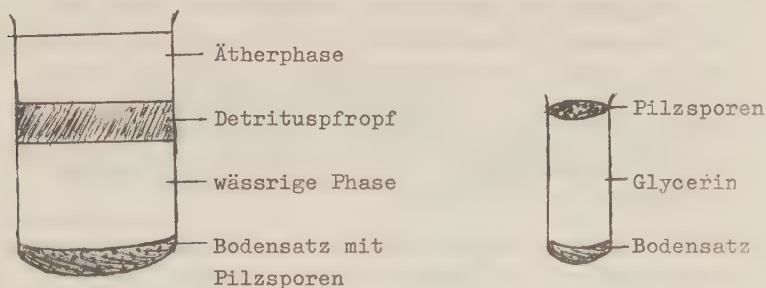
Bei den zahlreichen Vorversuchen, wie Aufschwemmen des Stuhls in Glycerin mit und ohne vorausgegangenem Auswaschen der wasserlöslichen Stuhlbestandteile, Anreicherung des Stuhls nach Entfettung mit Äther mit und ohne vorausgegangener Emulgierung in verdünnter Salzsäure (TELEMANN),

deren Ergebnisse in Bezug auf Reinigung und Ausmaß der Anreicherung nicht befriedigten, stellte es sich als günstig heraus, die Sporen wie folgt anzureichern:

Die Stuhlproben wurden mit Wasser homogenisiert und mit Äther ausgeschüttelt. Nach Zentrifugieren bildeten sich vier Schichten:

die oberste Ätherphase mit dem gelösten Fett,
ein Detrituspfropf,
die durch Stuhlfarbstoffe gefärbte wässrige Phase
und der Bodensatz, in dem sich neben Bindegewebs-, Muskelfasern und unverdauten Pflanzenresten die Pilzsporen finden.

In diesem ersten Arbeitsgang wurde bereits ein großer Teil der Begleitmaterialien, insbesondere Fett und andere leichte Stuhlbestandteile entfernt, die in Glycerin zusammen mit den Pilzsporen an die Oberfläche steigen würden. Die Sporen reicherten sich im Bodensatz an. Im zweiten Arbeitsgang werden sie hieraus in üblicher Weise an der Glycerinoberfläche angereichert. (s.Näheres in der Arbeitsvorschrift S. 127.).



1. Arbeitsgang

2. Arbeitsgang

Abb. 10: Anreicherung der Pilzsporen aus Stuhl

b) durchgeführte Versuche

Es wurden Gerichte aus verschiedenen frischen und getrockneten eßbaren Pilzen (Pfifferlinge, Champignons, Steinpilze) wie auf S.119 angegeben hergestellt und von mehreren Personen verspeist. Der Stuhl wurde einige Tage lang gesammelt.

Wir untersuchten gefärbte (ZIEHL-NEELSEN) und ungefärbte Stuhlausstriche. Ein Teil des Stuhles wurde mit der doppelten Menge Wasser homogenisiert, und die Sporenzahl pro Tropfen bestimmt.

Je 10 ccm des Stuhles wurden nach der auf S.127 angegebenen Arbeitsvorschrift angereichert, Ausstriche des Detrituspropfes und des Bodensatzes miteinander verglichen und schließlich die oberste Flüssigkeitsschicht der Glycerinaufschwemmung abgehoben.

Sämtliche Objektträgerausstriche und -präparate wurden ungefärbt und gefärbt mikroskopisch betrachtet.

c) Ergebnisse

Bei allen Ausstrichen der Stuhlproben (etwa 12 - 50 Stunden nach Pilzeinnahme) konnten wir Pilzsporen nachweisen.

Die gefundenen Sporenzahlen waren in den einzelnen Präparaten jedoch sehr unterschiedlich, da die Pilzsporen häufig in sogenannten "Nestern" zusammenlagen.

Wir benutzten daher für unsere vergleichenden Untersuchungen den homogenisierten Stuhl, in welchem die Sporen gleichmäßig verteilt waren.

Durch den ersten Arbeitsgang des Verfahrens konnte das Ausgangsmaterial auf etwa $1/5$ der ursprünglichen Menge eingeengt werden. Dadurch ließen sich reichlichere Stuhlproben zum Sporennachweis heranziehen.

Wie unsere Untersuchungen zeigten, gingen mit dem an der Grenzschicht Äther - Wasser entstehendem Detrituspropf

nur wenige Sporen verloren.

Wir erhielten im Mittel durch das Verfahren eine 10-fache Anreicherung der Sporen aus dem Stuhl. Die Grenzwerte lagen bei einer 5 - bis 15-fachen Vermehrung der Sporenzahl in einem Tropfen nach Anreicherung gegenüber einem Tropfen des Ausgangsmaterials. Die endgültige Anreicherung war durchschnittlich doppelt so groß wie die Anreicherung im Bodensatz.

Ein Beispiel für die Verteilung der Sporen in den verschiedenen Untersuchungsproben ist aus Tab. 11 zu ersehen.

	<u>homog. Stuhl</u>	<u>Detritus</u>	<u>Bodensatz</u>	<u>angereichert</u>
Sporenzahl pro Tropfen	70	8	320	700

Tab. 11: Vergleich der Sporenzahl bei der Anreicherung aus Pilzstuhl.

Unsere Präparate nach Anreicherung zeigten eine weitgehende Reinigung von störenden Begleitmaterialien, was eine Identifizierung der Sporen merklich erleichterte.

Wir erhielten in einem Präparat auch einen Querschnitt durch sämtliche eingenommenen Pilzsporen.

Die Dauer der Sporenausscheidung zeigt besonders eindrucksvoll folgendes Beispiel. Die Ergebnisse des Sporennachweises aus dem Stuhl - mit und ohne Anreicherung - nach dem Genuß von ca. 10 g getrockneten Steinpilzen sind in Tab. 12 zusammengestellt.

	homogen.Stuhl	nach Anreicherung
1. Tag nach Aufnahme	60 Sp	250 Sp
2. Tag nach Aufnahme	100 Sp	800 Sp
3. Tag nach Aufnahme	100 Sp	1200 Sp
4. Tag nach Aufnahme	25 Sp	150 Sp
5. Tag nach Aufnahme	8 Sp	80 Sp
6. Tag nach Aufnahme	2 Sp	30 Sp
7. Tag nach Aufnahme	Es fand sich erst bei 3x Unters. 1 Sp	8 Sp.

In den Stuhlausstrichen des 6. und 7. Tages fanden sich keine Steinpilzsporen mehr.

Sp = Sporenzahl pro Öse

Tab. 12: Sporenausscheidung nach dem Genuß von ca. 10 g getrockneten Steinpilzen.

Bei allen Versuchspersonen konnten die Sporen sämtlicher eingenommener Pilze im Stuhl nachgewiesen werden. Bereits 12 Stunden nach Pilzgenuß fand sich eine Sporenausscheidung im Stuhl Sie dauerte meist 5 Tage, in einem Einzelfall 8 Tage. Die größte Sporenzahl konnte im Mittel nach 48 Stunden beobachtet werden (s. Abb. 20, S.145).

Bei all diesen Untersuchungen zeigte es sich, daß sich die Pilzsporen durch den Verdauungsprozeß nicht in ihren morphologischen Eigenschaften verändern. Da man Sporenfragmente nicht mehr diagnostizieren kann, ist über die Zahl der eventuell zerstörten Sporen nichts Sicheres auszusagen.

Durch die große Menge der völlig unveränderten Pilzsporen, die wir fanden, scheinen sie sehr widerstandsfähig gegenüber den Einflüssen der Verdauung.

Die Verweildauer der Pilzsporen im Magen-Darmtrakt war verhältnismäßig lang. Sie konnten auch noch im Stuhl nachgewiesen werden, wenn keinerlei makroskopisch sichtbare Pilzreste mehr ausgeschieden wurden.

d) Arbeitsvorschrift

Der Stuhl wird zur Freisetzung der Sporen, zum Lösen der Stuhlfarbstoffe und zur Emulgierung des Fettes mit der 10-fachen Volumenmenge Wasser im Mixer (Starmix) auf kleinster Stufe homogenisiert und mit der gleichen Menge Äther im Kolben einige Minuten lang kräftig ausgeschüttelt. Das dünnflüssige Gemisch wird durch ein Gazetuch in große Zentrifugengläser (80 ml) gefiltert, wobei die gröberen Bestandteile zurückbleiben und einige Minuten bei hoher Umdrehungszahl (3000-4000 U/min) zentrifugiert. Dabei entstehen vier Schichten (s.S.123) : die oberste Ätherphase, ein Detrituspfropf, die wässrige Phase und der Bodensatz mit den angereicherten Pilzsporen.

Den Detrituspfropf löst man mit einem Glasstab von der Wand des Glases und saugt die oberen drei Schichten mit einer an die Wasserstrahlpumpe angeschlossenen Pipette ab. Beim Dekantieren würde der Bodensatz mitgerissen.

Den Rückstand wäscht man nochmals mit Wasser aus, verrührt ihn sorgfältig - zuerst tropfenweise - mit der 10-fachen Menge an Glycerin und füllt ihn in 10 ml-Zentrifugenröhrchen.

Durch 20 Minuten langes Zentrifugieren bei höchster Umdrehungsgeschwindigkeit (5000 U/min) werden die Sporen an der Oberfläche angereichert und von dort mit der Öse auf den Objektträger abgehoben.

III. Anwendung des Anreicherungsverfahrens zum Nachweis von Pilzsporen bei Vergiftungsfällen

Hier sollen Vergiftungsfälle beschrieben werden, bei denen es uns möglich war, aus zur Untersuchung gelangenden Asservaten die Sporen giftiger Pilze nachzuweisen.

1. Tödliche Vergiftung durch Knollenblätterpilze (Amanita phalloides sive virosa).

a) Vorgeschichte

Der 31-jährige türkische Gastarbeiter Ö. äußerte am Morgen des 22.9.1965 Freunden gegenüber, daß er sich seit dem vergangenen Abend nicht recht wohl fühle. Im Laufe des Tages und der folgenden Nacht erbrach er fortwährend, entleerte häufig durchfällige Stühle und klagte über heftige Bauchschmerzen.

Am Morgen des 23.9.1965 befand sich Ö. sehr schlecht. Er schwitzte stark und "konnte sich kaum mehr auf den Beinen halten". Gegen 10.30 Uhr wurde er in ein Belegkrankenhaus nach S. gebracht. Eine Anamnesenerhebung durch den aufnehmenden Arzt war nicht möglich, da Ö. kein Wort deutsch sprach. Durch Angaben der Begleitperson und Gesten des Patienten erfuhr der Arzt nur, daß Ö. "Durchfall" habe.

Die klinische Untersuchung ergab außer einer leichten Druckempfindlichkeit des Abdomens und mäßiger Pulsbeschleunigung keinen krankhaften Befund, sodaß die Diagnose Gastroenteritis gestellt wurde.

Der Patient erhielt zunächst absolute Bettruhe und strenge Diät verordnet. Sein Befinden verschlechterte sich zusehends. Die Durchfälle bestanden weiter, und er klagte über heftigen Durst und quälende Bauchschmerzen. Auf die Medikation von 15 Tropfen Opium wurde er etwas ruhiger. Gegen 17.00 Uhr war

er kaum noch ansprechbar.

Nun erinnerte sich ein türkischer Freund, daß ihm Ö. erzählte hatte, er habe am 20.9.1965 Pilze gesammelt und selbst zubereitet. Der Zeitpunkt des Pilzgenusses war unbekannt. Um sich verständlich zu machen, zeigte der Türke der Stationsschwester einen aufgezeichneten Pilz. Der behandelnde Arzt wurde von dieser Tatsache nicht unterrichtet.

In der Nacht zum 24.9.1965 gegen 2.35 verstarb der Patient.

Bei der gerichtlichen Leichenöffnung am 25.9.1965 gaben die obduzierenden Ärzte Reg.Med.Dir.Dr.Bittner und Dr.Reinhard folgendes vorläufige Gutachten ab:

Als wesentliche Befunde wurden erhoben: Gesunde Organe eines jüngeren Mannes, bei denen man nur an einem Teil einer Kranzarterie eine geringe Atheromatose vorfand; Hirnswellung; akute Stauung fast aller Organe mit flächenhaften Blutaustritten unter die Herzaußenhaut; sehr stark gestaute Lungen mit Lungenödem; akut degenerierte Leber; Befund toxischer Alteration im Verlauf des Verdauungstraktes.

Nach dem Sektionsbefund handelt es sich um einen Tod aus Vergiftung. Nach Hergang und Befund kann an eine Lebensmittelvergiftung im weitesten Sinne gedacht werden, wobei vor allem auch eine Pilzvergiftung in Betracht zu ziehen ist. Nach den Befunden allein ist allerdings auch ein anderes lebertoxisches Gift, wie z.B. Arsenik nicht ganz auszuschließen.

Zur weiteren Klärung der Todesursachen wurde Magen-, Dünn- und Dickdarminhalt asserviert und dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Univ. Erlangen-Nürnberg zur Untersuchung übergeben.

Bei der polizeilichen Durchsuchung der Wohnung des Verstorbenen wurden keine Pilzreste gefunden. Die Untersuchung eines sichergestellten Gefäßes mit verdorbenen Lebensmitteln (Fleisch) auf pathogene Keime durch die Staatl. Bakteriologische Untersuchungsanstalt Erlangen fiel negativ aus.

b) Eigene Untersuchungen

Pharmakognostische Untersuchung

aa) Untersuchung des Mageninhaltes

10 ml asservierten bräunlich-dunklen Mageninhaltes wurden mit der gleichen Menge Wasser im Mixer homogenisiert und in zwei 10 ml-Zentrifugengläschen gefüllt. Nach Zentrifugieren und Abdekantieren der überstehenden schmutzigen braunen Lösungen erhielten wir in jedem Röhrchen je etwa 1 ccm Bodensatz. Dieser wurde mit der 10-fachen Menge Äther kräftig geschüttelt und die Ätherphase nach nochmaligem Zentrifugieren mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Der Rest wurde mit einigen Tropfen Glycerin gut verrührt, das Gläschen bis zum Rand mit Glycerin aufgefüllt und nochmals zentrifugiert.

Mit einer Metallöse wurden mehrere Oberflächenschichten abgehoben und mikroskopisch untersucht. Einige Präparate wurden fixiert und angefärbt.

Es zeigten sich einige runde, bis leicht eiförmige, etwa 6 μ große bräunliche Sporen (Champignon) und ganz vereinzelt kreisrunde, etwa 8-10 μ große farblose Sporen (Knollenblätterpilze, andere Wulstlinge). In den gefärbten Präparaten fanden wir die gleichen Sporen rot gefärbt. (s. Abb. 21 und 21 b, S. 146)

bb) Untersuchung des Dünn- und Dickdarminhaltes

Aus den asservierten Darmschlingen wurden je etwa 5 ml gräulicher, dickflüssiger Dünn- und Dickdarminhalt gewonnen.

Dieser wurde mit der 10-fachen Menge Wasser homogenisiert, mit der gleichen Menge Äther kräftig geschüttelt, durch ein Gazetuch gefiltert und zentrifugiert.

Nach Absaugen der Ätherphase, des Detrituspfropfes und der wässrigen Phase wurde der Bodensatz ausgewaschen und wie oben beschrieben mit Glycerin vermischt und zentrifugiert. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Oberflächenschichten fanden sich die oben beschriebenen Sporen, allerdings in reicherer Anzahl (s.Abb. 21 c, S. 146)

c) Beurteilung

Auf Grund der allerdings unsicheren Anamnese konnte angenommen werden, daß Ö. am 20.9.1965 Pilze gesammelt und spätestens am 21.9.1965 verspeist hat. Nach ungefähr 24 Stunden kam es zu heftigen gastrointestinalen Erscheinungen und den Zeichen eines fortschreitenden Kreislaufzusammenbruchs, dem Ö. in der Nacht zum 24.9.1965 erlag. Krankheitsbild, -verlauf und Obduktionsbefund sprachen für eine Vergiftung.

Bei unseren mikroskopischen Untersuchungen ließen sich im Magen- Darminhalt Sporen von Wiesenchampignons und von Pilzen der Amanitengruppe nachweisen. Die selben morphologischen Eigenschaften wie die von uns gefundenen Sporen (kreisrund, hell, 8-10 μ Ø) haben der grüne, weiße und gelbe Knollenblätterpilz und der porphyrbraune Wulstling.

Der pharmakognostische Nachweis dieser Pilzsporen, die klinische Symptomatik mit den zwei typischen Zeichen der Knollenblätterpilzvergiftung, nämlich den nach einer langen Latenzzeit einsetzenden heftigsten gastroenteritischen Erscheinungen und dem in den ersten Tagen völlig ungetrübten Sensorium, und die pathologisch-anatomischen Befunde, vor allem Hirnschwellung, Blutaustritte im Bereich des Herzens, toxische Alteration im Verlauf des Verdauungstraktes und akut degenerierte Leber, zeigten, daß eine Vergiftung durch *Amanita phalloides* oder *Amanita virosa* vorgelegen hat.

2. Massenvergiftung durch den gelben Knollenblätterpilz (Amanita mappa Batsch).

a) Vorgeschichte

Die Köchin eines Schwesternheimes in C. kaufte am 29.9.1965 von dem ambulanten Händler G. 45 Pfund verschiedene Pilze. G. gab an, daß er am 27.9. und 28.9.1965 folgende Pilze gesammelt habe: Waldblaustiele, Rotkappen, Birkenpilze, Steinpilze, Ziegenlippe, Sandpilze (Sandröhrlinge), Semmelpilze, Hallimasch, Parasolpilze, Waldchampignons und Pfifferlinge. Die Pilze seien auf einem kühlen Zementboden gelagert worden.

101 Schwestern nahmen am 30.9.1965 an dem aus diesen Pilzen bereiteten Essen teil. Im Anschluß klagten 87 der Schwestern über subjektive Beschwerden, von den stärker Erkrankten wurden 27 untersucht und 16 im Landkrankenhaus C. stationär aufgenommen.

Nach dem Bericht des behandelnden Arztes setzten die ersten Krankheitserscheinungen 2-4 Stunden nach Aufnahme des Pilzgerichtes ein und äußerten sich vor allem in Leibschmerzen und Brechreiz. Zum Teil sei heftiges Erbrechen aufgetreten. Später seien typische Pupillenstörungen (deutliche Mydriasis) beobachtet worden.

Auf Grund dieser Pupillenstörungen und des relativ frühen Einsetzens der Krankheitserscheinungen dachte man an das Vorliegen eines "Pántharinasyndroms".

Bei 8 Schwestern wurde eine Magenspülung durchgeführt. Unter der üblichen Therapie klangen die Beschwerden bei fast allen Betroffenen am Folgetag recht gut ab. Die meisten Schwestern wurden am 30.9. und 1.10. wieder aus stationärer Behandlung entlassen. 2 Patientinnen waren bis 4.10.65 in stationärer Behandlung. Das Auftreten einer toxischen Leberschädigung konnte bei keiner Schwester beobachtet werden.

Reste des Pilzgerichtes und Stuhlproben der Patienten wurden an das Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen-Nürnberg gesandt mit der Fragestellung, ob und gegebenenfalls welche giftigen Pilze darin festzustellen sind.

b) Eigene Untersuchungen

Pharmakognostische Untersuchungen

aa) Untersuchung des Pilzgerichtes

Die verschiedenen makroskopisch unterscheidbaren Pilzstückchen sowie Ausstriche der Pilzsoße wurden unter dem Mikroskop betrachtet. Anschließend wurden die verschiedenen Pilzreste sowie 10 ml der Pilzsoße mit Wasser im Mixer homogenisiert, und die Sporen entsprechend der auf S. 121 angegebenen Arbeitsvorschrift an der Glycerinoberfläche angereichert. Wir hoben mit der Metallöse mehrere Oberflächenschichten ab und untersuchten sie ungefärbt (ZIEHL-NEELEN) mikroskopisch.

Hierbei wurden folgende Sporen gefunden (in Klammern stehen die Pilze, die durch ihre Sporen nicht unterschieden werden können, da die Ähnlichkeit der morphologischen Eigenschaften ihrer Sporen sichere Aussagen verhindert):

Sehr viele Boletussporen (Blaustiele, Rotkappen, Birkenpilze, Sandpilze, Semmelpilze, Ziegenlippe, Satanspilz und einige andere Röhrlingsarten), Steinpilzsporen (lassen sich gegenüber anderen Boletusarten unterscheiden), Pfifferlingssporen (Hallimasch), Täublingssporen, Parasolpilzsporen, Champignonssporen (Stockschwämme) und sogenannte Amanitaesporen (Knollenblätterpilze, porphyrbrauner Wulstling). (s. Abb. 16, S. 142, Abb. 17, S. 143, Abb. 18, S. 144, Abb. 19, S. 144).

bb) Untersuchung der Stuhlproben

Zur Untersuchung gelangten Stuhlproben (2-4 ml) von 12 Patientinnen (Entnahme der Proben am 1.10.65, einen Tag

nach Pilzgenuß) und von 6 Patientinnen (drei Tage nach Pilzgenuß).

In den normalen Stuhlausstrichen fanden sich vereinzelt Pilzsporen. Nach Anreicherung (s.Arbeitsvorschrift S.127) konnten in den 18 Stuhlproben bei der mikroskopischen Untersuchung die gleichen Sporen, allerdings in weitaus geringerer Anzahl, wie im Pilzgericht nachgewiesen werden.

c) Beurteilung:

In den Untersuchungsproben (Pilzgericht und Stuhlproben von Patientinnen) waren Boletussporen (Sporen von Blaustielen, Rotkappen, Birkenpilzen, Sandpilzen, Semmelpilzen, Ziegenlippe und einigen anderen Boletusarten können nicht unterschieden werden), Steinpilzsporen, Pfifferlingssporen, Täublingssporen und Champignonssporen festzustellen.

In allen Untersuchungsproben wurden in geringer Zahl 8-10 μ große, farblose, kreisrunde Sporen mit glatter Oberfläche gefunden, die mit den Sporen obengenannter Pilze nicht übereinstimmen und auch nicht verwechselt werden können.

Bei der Sporenanalyse wurden keine Sporen gefunden, die in Form und Größe mit Sporen des Fliegen- oder Pantherpilzes übereinstimmen.

Das beschriebene klinische Bild spricht für eine Pilzvergiftung mit gastrointestinalen Erscheinungen oder ein leichtes Pantharinasyndrom.

Die gleichen morphologischen Eigenschaften wie die von uns in den Untersuchungsproben festgestellten Sporen (farblos, glatte Oberfläche, kreisrund 8-10 μ Ø) besitzen die Sporen folgender Amaniten: der grüne, weiße, gelbliche und Frühlingsknollenblätterpilz sowie der porphyrbraune Wulstling. Eine Vergiftung durch die sehr giftigen Knollenblätterpilze (grüner, weißer und Frühlingsknollenblätterpilz) erschien durch das verhältnismäßig frühe

Einsetzen der ersten Krankheitserscheinungen (2-4 Stunden nach Pilzaufnahme) und das Fehlen einer Leberschädigung bei den stärker erkrankten Schwestern unwahrscheinlich. Nach Ausschluß der sehr giftigen Knollenblätterpilze können die von uns gefundenen Sporen nur vom gelblichen Knollenblätterpilz (*Amanita mappa* Batsch) oder vom ungiftigen porphyrbraunen Wulstling herrühren.

Amanita mappa Batsch wird heute im allgemeinen für giftig gehalten, ist aber bei weitem harmloser als seine Abarten (s.S.61). Nach ALDER 1960 kann er neben gastrointestinalen Erscheinungen zuweilen auch Symptome einer leichten Pantherpilzvergiftung hervorrufen.

3. Vergiftung durch Knollenblätterpilze (*Amanita phalloide* sive *virosa*).

Im folgenden wird ein Vergiftungsfall beschrieben, bei dem uns sofort nach stationärer Aufnahme der Patientin Untersuchungsproben zugesandt wurden mit der Bitte festzustellen, ob giftige Pilze gegessen wurden.

Durch den Schnellaufweis der darin enthaltenen Knollenblätterpilzsporen war es möglich, noch vor Ausbildung der charakteristischen klinischen Symptomatik neben der allgemeinen die entsprechende spezielle Behandlung einzuleiten. Da die Serumtherapie nicht ganz gefahrlos ist (cave Schock!), erscheint es günstig, wenn ihre frühzeitige, hochdosierte Anwendung durch die sichere Diagnose einer Knollenblätterpilzvergiftung gerechtfertigt wird.

(Für die freundliche Überlassung der Krankengeschichte danken wir der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg, Direktor: Prof. Dr.L.Demling).

a) Vorgeschichte

Die 57-jährige Frau K. verspeiste am 28.7.1966 ein selbstgesammeltes Pilzgericht. Mehrere Stunden später, nachts gegen 1.00 Uhr stellten sich Meteorismus, diffuse Bauchschmerzen, massives Erbrechen (8-10 Mal) und Durchfälle ein. Frau K. wurde am Vormittag des 29.7.1966 in stationäre Behandlung überwiesen.

Bei der klinischen Aufnahmeuntersuchung ergab sich folgender Befund: Reduzierter Allgemeinzustand; RR 130/90 mmHg; Puls 104/Min.; Meteorismus; Leber nicht tastbar.

Die durchgeführten Urin- und Blutuntersuchungen zeigten zunächst lediglich eine angedeutete Hyperbilirubinämie, Leukurie und Proteinurie.

Unmittelbar nach der Aufnahme wurden eine Magenspülung und Instillation von Kohle und Magnesiumsulfat durch die liegende Sonde vorgenommen. Weiterhin wurden Infusionen mit Lävulose und physiologischer Kochsalzlösung, Vitamine und Herzmittel verabreicht.

Reste des Pilzgerichtes und Mageninhalt wurden sofort nach der Aufnahme dem Gerichtsmedizinischen Institut der Univ. Erlangen-Nürnberg zum Nachweis giftiger Pilze übergeben.

b) Eigene Untersuchungen

Pharmakognostische Untersuchung

Zur Untersuchung gelangten Reste des Pilzgerichtes, etwa 100 ml Magenspülflüssigkeit und 10 ml einer 10 Tage nach Pilzaufnahme entnommenen Stuhlprobe der Patientin.

aa) Untersuchung des Pilzgerichtes

In dem Pilzmischgericht waren einige größere Pilzstückchen zu erkennen, die sich bereits makroskopisch durch die weiße Färbung ihrer Lamellen von den übrigen dunkleren Pilzresten unterschieden. Einige dieser Lamellen

wurden unter dem Mikroskop betrachtet, wobei sich zahlreiche, z.T. noch auf den Basidien sitzende kreisrunde, 8-10 μ große, farblose Sporen zeigten (Knollenblätterpilze, andere Wulstlinge). 10 ml des Pilzgerichtes bzw. der Pilzsoße wurden nach der auf S.121 angegebenen Vorschrift aufgearbeitet. In den von der Glycerinoberfläche abgehobenen Flüssigkeitsschichten fanden wir neben den oben beschriebenen Sporen noch Pfifferling-, Champignon- und vereinzelt Steinpilzsporen.

bb) Untersuchung der Magenspülflüssigkeit

100 ml Magenspülflüssigkeit wurden homogenisiert und zentrifugiert. Der entstandene Bodensatz wurde in der für die Sporenanreicherung aus dem Pilzgericht angegebenen Weise entfettet und mit Glycerin zentrifugiert. Bei der mikroskopischen Betrachtung fanden wir die gleichen Sporen wie im Pilzgericht in geringer Anzahl.

cc) Untersuchung der Stuhlprobe

In den 10 ml der 10 Tage nach Pilzgenuß entnommenen Stuhlprobe der Patientin konnten wir auch nach Anreicherung keine Pilzsporen mehr nachweisen.

c) Beurteilung

Die von uns neben Champignon-, Pfifferling- und Steinpilzsporen im Pilzgericht und Mageninhalt gefundenen kreisrunden, 8-10 μ großen, farblosen Sporen stammten von Pilzen der Amanitagruppe (Knollenblätterpilze, andere Wulstlinge). Die Sporenanalyse und die klinische Symptomatik sprachen eindeutig für eine Vergiftung durch die sehr giftigen Knollenblätterpilze *Amanita phalloides* oder *Amanita virosa*.

d) weiterer Verlauf

Nach Sicherung der Diagnose wurde Serum antiphalloidien appliziert. Wegen der zu erwartenden schweren toxischen Leberschädigung wurden den Infusionen Leberschutzmittel

zugesetzt und 100 mg Prednisolon verabreicht, das später langsam abgebaut wurde.

Am 2. Tag nach Klinikaufnahme stiegen die Transaminasenwerte im Serum stark an (LDH 1 365 I.E., SGOT 955 I.E., SGPT 537 I.E.), wobei es erst vom 3. Tag an zu einem Überwiegen der GPT-Aktivität, d.h. zu der für Leberparenchymschäden typischen Umkehr des Re-Ritis-Quotienten kam (s.S. 45). Bilirubin war auf 1,67 mg % erhöht, Kalium auf 5,7 mval. Im Blutzuckertagesprofil wurden Werte über 200 mg % gemessen, was jedoch, wie sich bei später durchgeführten Glucosebelastungsproben herausstellte, durch einen latenten Diabetes mellitus bedingt war. Als Ausdruck einer Pankreasschädigung stieg die Diastaseausscheidung im Urin bis auf 70,5 g/24 Std. an.

Am 3. Krankheitstag war die Leber etwa 2 Querfinger unterhalb des Rippenbogens palpabel. Bei der 2 Tage später durchgeführten Laparoskopie fanden sich makroskopisch zahlreiche flache Einziehungen an der braunrötlichen Leberoberfläche, die von derbem weißlichen Gewebe bedeckt waren. Das Organ erschien schlaff, konsistenzvermindert. Die histologische Untersuchung des durch Punktion gewonnenen Lebergewebes zeigte herdförmige Areale einer abgelaufenen Leberepithelnekrose ohne entzündliche Reaktion, wobei die epithelgeschädigten Bezirke mengenmäßig überwogen.

17 Tage nach der Aufnahme hatten sich die Fermentwerte normalisiert. Die Patientin fühlte sich wohl und konnte am 3.9.1966 in gutem Allgemeinzustand nach Hause entlassen werden.

Frau K- wurde am 5.1.1967 zur Kontrolle der Leberfunktion wiederum stationär aufgenommen.

Sie hatte sich seit der Entlassung ausgesprochen wohl gefühlt und einige kg an Gewicht zugenommen.

Die klinische Untersuchung ergab keinen krankhaften Befund. Die im Hinblick auf einen persistierenden Leberschaden nach Knollenblätterpilzvergiftung durchgeführten blutchemischen Untersuchungen und Leberfunktionsproben wiesen bis auf eine geringfügig verzögerte Bromthaleinelimination keine pathologischen Werte auf. Der histologische Befund eines Leberpunktates war unauffällig.

So hatte sich in Anbetracht der schweren Erstsymptome nach der Vergiftung ein äußerst günstiger Verlauf ergeben (s.a.S. 49).

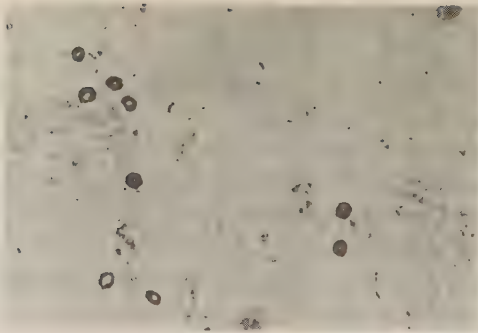


Abb. 13a

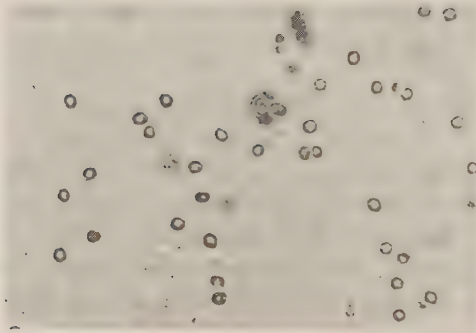


Abb. 13b

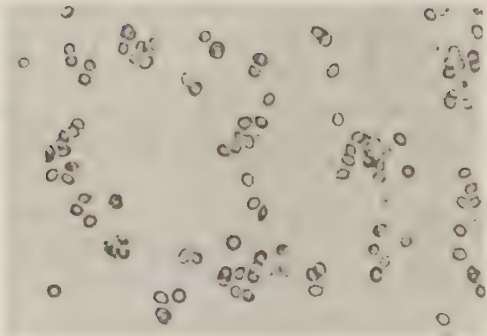


Abb. 13c

Abb. 13: Täublingsaporen 1/2 Std. (13a), 3 Std. (13b) und mehr als 24 Std. (13c) in Glycerin angereichert.
Vergrößerung: 1:280



Abb. 14a



Abb. 14b

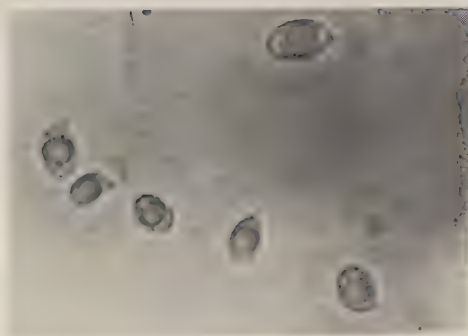


Abb. 14c

Abb. 14: Fliegenpilzsporen in Wasser nach Anreicherung in Glycerin. (14a (Vergrößerung: 1:280) $\hat{=}$ 1 Fliegenpilz in 5 l Wasser; 14b (Vergrößerung: 1:700) und 14c (Vergrößerung: 1:900) $\hat{=}$ 1 Fliegenpilz in 50 l Wasser verdünnt.)

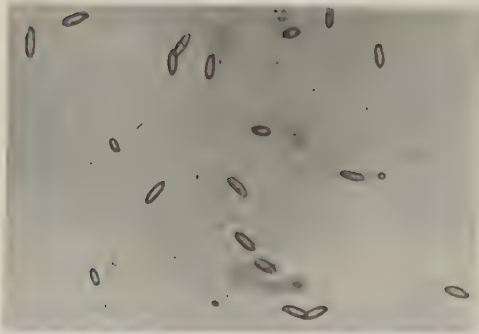


Abb. 15. Steinpilzsporen in Glycerin angereichert (s. S. 119)
Vergrößerung: 1:280

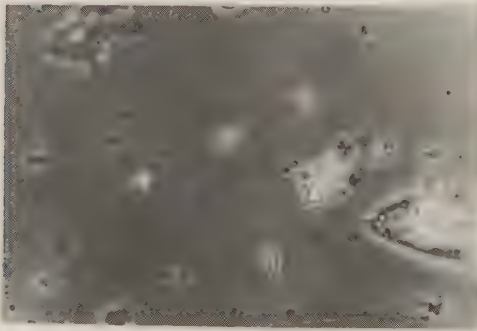


Abb. 16: 3 Boletussporen aus Pilzgericht
Vergrößerung: 1:280

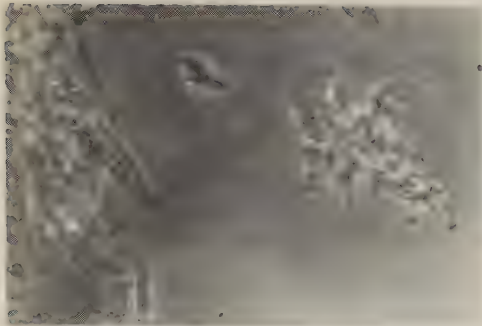


Abb. 17a

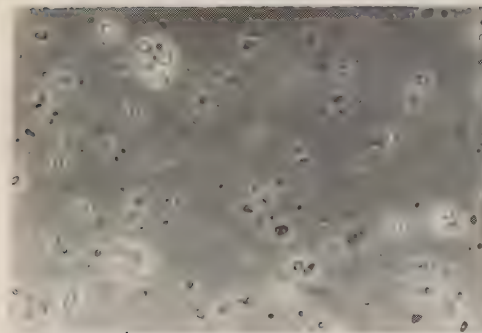


Abb. 17b

Abb. 17: Pilzsporen aus Pilzgericht (s. S. 133) nicht angereichert (17a) und angereichert (17b)
Vergrößerung: 1:280

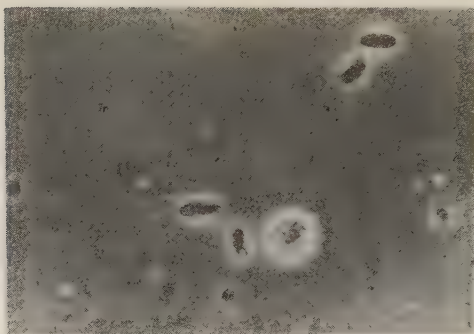


Abb. 18: Amanitaspore, Grünling- und Champignonsporen
aus Pilzgericht.

Vergrößerung: 1:700

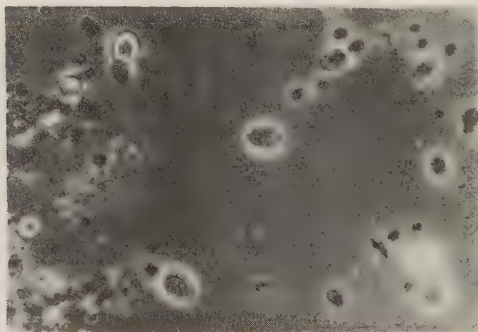


Abb. 19: Pfifferlingsporen aus Pilzmischgericht

Vergrößerung: 1:700

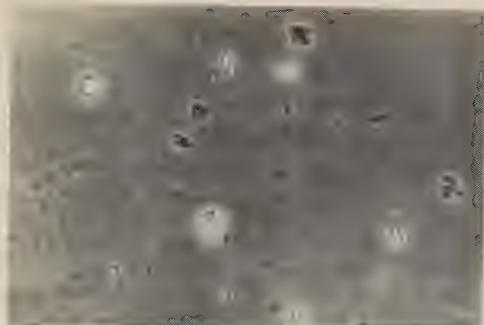


Abb. 20a



Abb. 20b



Abb. 20c

Abb. 20: Steinpilzsporen nach Anreicherung aus Stuhl, entnommen
2 Tage (20a), 5 Tage (20b) und 7 Tage (20c) nach
Pilzgenuß.

Vergrößerung: 1:280 (20a); 1:700 (20b und 20c)

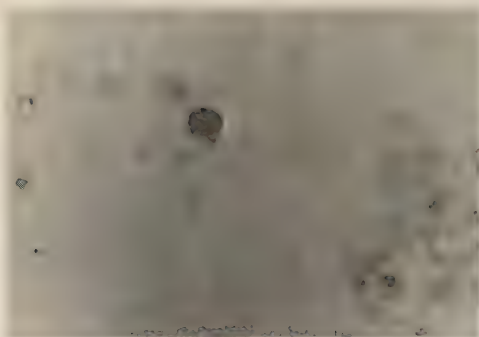


Abb. 21a

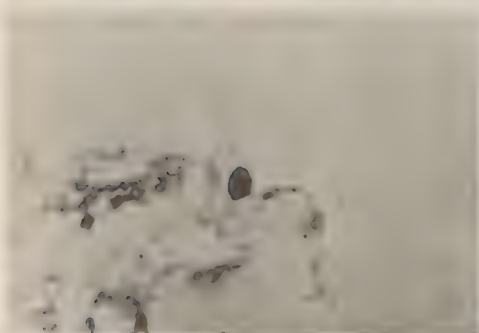


Abb. 21b

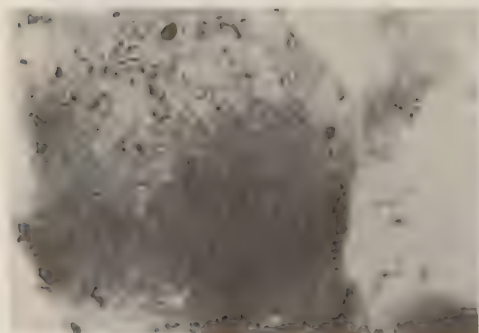


Abb. 21c

Abb. 21: Amanitaspore (21a) und Champignonspore (21b) aus Mageninhalt, Amanita- und Champignonspore (21c) aus Darminhalt angereichert und gefärbt.
Vergrößerung: 1:700 (21a und 21b); 1:280 (21c)

D. Diskussion und Zusammenfassung

An den Anfang folgender Arbeit wurde ein historischer Rückblick über die Bedeutung der Pilze und Pilzvergiftungen gestellt. Es zeigte sich, daß letztere zu den ältesten Vergiftungen der Menschheit zählen und auch heute, besonders in europäischen Ländern, einen nicht unerheblichen Anteil der gesamten Intoxikationen ausmachen.

In erster Linie beschäftigt die Aufklärung von Pilzvergiftungen den Kliniker, da er rasch eine gezielte Therapie einzuleiten muß, die sich - wie in Kapitel III beschrieben - in ihrem speziellen Teil bei den verschiedenen Intoxikationen oft erheblich unterscheidet.

Sie ist jedoch auch forensisch von Bedeutung, weil Pilzvergiftungen immer wieder Anlaß zu strafrechtlichen Verfahren mit der Fragestellung der vorsätzlichen oder fahrlässigen Giftbeibringung geben (s.S.26-29).

In der Praxis muß der Arzt die Diagnose einer Pilzvergiftung meist an Hand der klinischen Symptomatik und des Verlaufes stellen, wobei die Latenzzeit bis zum Auftreten der ersten Erscheinungen eine gewisse differentialdiagnostische Hilfe bietet.

KISTLER und SCHMID, sowie ALDER 1961 behaupten, daß die einzelnen Intoxikationen auf Grund ihrer speziellen Symptome erkannt und unterschieden werden können.

Daher wurden in Kapitel III (S.29-63) die verschiedenen Giftpilze und die durch sie hervorgerufenen Vergiftungsbilder einschließlich der pathologisch-anatomischen Befunde zusammengestellt.

Hierbei zeigte die differentialdiagnostische Betrachtung die Anzahl der Verwechslungsmöglichkeiten mit anderen Erkrankungen, insbesondere mit anderen Intoxikationen. Eine weitere Schwierig-

keit bietet die Unterscheidung der einzelnen Pilzvergiftungen, zumal zu Beginn, wenn die allen gemeinsamen uncharakteristischen gastrointestinalen Erscheinungen das Krankheitsbild beherrschen, und die feineren Schattierungen der speziellen Syndrome noch nicht, bzw. so wenig in den Vordergrund treten, daß sie leicht übersehen werden. Nur das Muscarinsyndrom beinhaltet für diese Vergiftung typische Zeichen.

So betonen viele Autoren (CANFORA, JAROSCH und STITZ, KLAR, ELLIOT et al. u.v.a.) die Problematik der Aufklärung einer Pilzvergiftung auf Grund der Klinik, die allenfalls zu einer Vermutungsdiagnose (KÄMPF) führt. Diese kann durch die Anamnese (Genuß eines Pilzgerichtes, Verwechslungsmöglichkeiten aufgenommener essbarer mit giftigen Pilzen, Standort etc.) und in Fällen mit letalem Ausgang durch die oft jedoch -vor allem wenn längere Zeit nach dem Tod entnommen- uncharakteristischen pathologisch-anatomischen Befunde erhärtet werden.

Ein sicherer Nachweis, wie er insbesondere auch für forensische Zwecke notwendig ist, kann auf diesem Wege nicht geführt werden.

Bei Sichtung der Literatur fanden sich in der überaus großen Anzahl von Veröffentlichungen über Pilzvergiftungen nur verhältnismäßig wenig Arbeiten über deren Nachweis.

Wir haben nach einer Zusammenstellung der in ihrer chemischen Struktur aufgeklärten Toxine der Pilze (S.64-74) die bekannten Methoden zum Nachweis von giftigen Pilzen beschrieben, nämlich das chemisch-toxikologische, physiologische und serologische Nachweisverfahren, sowie den botanischen Nachweis. Bei der anschließenden kritischen Besprechung ihrer Bedeutung zur Aufklärung von Intoxikationen (S.98-106) zeigte sich folgendes:

a) chemisch-toxikologischer und physiologischer Nachweis

Die Wirkstoffe vieler Giftpilze sind chemisch noch nicht erforscht, sodaß geeignete Analysenmethoden fehlen. Allerdings wurden im letzten Jahrzehnt die toxischen Substanzen gerade der wichtigsten Giftpilze, nämlich α -, β -, γ -Amanitin, Phalloin, Phalloidin, Phallacidin sowie Muscarin in ihrer chemischen Konstitution aufgeklärt. Trotz empfindlicher Erkennungsreaktionen (s.a.Tab.3, S.78) lassen sie sich bei Vergiftungsfällen kaum zu einem einfachen chemisch-toxikologischen oder physiologischen Nachweis heranziehen, da sie nur in sehr geringer Menge in Organen und Körperflüssigkeiten vorkommen und zuweilen rasch abgebaut oder ausgeschieden werden sollen (s.a.S.101).

Die Möglichkeiten dieser zudem mit großem Aufwand verbundenen Nachweisverfahren sind zum jetzigen Zeitpunkt sehr beschränkt. Ihre Anwendung auf Untersuchung von Pilzgerichten, deren Abfällen sowie Mageninhalt wird in Zukunft sicher immer mehr in den Vordergrund treten.

b) serologischer Nachweis

Da die hämolysierenden und hämagglutinierenden Eigenschaften der Pilze durch Erhitzen auf 60°C oder nach höchstens zweistündiger Einwirkung von Magensaft verlorengehen (s.S.90), kann der serologische Nachweis für die überwiegende Mehrzahl der Vergiftungsfälle nicht herangezogen werden (S.104).

c) botanischer Nachweis

Wie in Kapitel V, 4 (S.92-97b) beschrieben wurde, gelingt der Nachweis einer Pilzvergiftung am sichersten und einfachsten durch den pharmakognostischen Nachweis der aufgenommenen Pilze. Hierzu dient vor allem die mikroskopische Auffindung und Differenzierung der Pilzsporen als charakteristische und unveränderliche Merkmale der verschiedenen Pilzarten.

In vielen Veröffentlichungen wurde auf die Bedeutung des Sporennachweises bei der Diagnose einer Pilzvergiftung hingewiesen (s.S.104). Im Gegensatz hierzu fällt auf, daß sich in der Literatur derartige positive Nachweise nur selten erwähnt fanden (s.S.104). Dies suchten wir durch die verhältnismäßig geringe Anzahl der Sporen, insbesondere auch der Sporen des verantwortlichen Giftpilzes, in den zur Untersuchung gelangenden Asservaten, Überlagerung durch störende Begleitmaterialien und unsere mangelnden Kenntnisse über eventuelle morphologische Veränderungen der Sporen durch Zubereitung und menschliche Verdauung zu erklären (s.S.105-106).

Am Ende unserer Überlegungen, die wir an Hand der in der reichhaltigen Literatur aufgefundenen Gesichtspunkte anstellten, kamen wir zu dem Ergebnis, daß uns zum sicheren Nachweis einer Pilzvergiftung bisher nur der botanische Nachweis zur Verfügung steht, der allerdings auch nur in einer ungenügenden Anzahl der Untersuchungsfälle positive Resultate erbringt.

Im experimentellen Teil vorliegender Arbeit war die Aufgabe zu lösen, den botanischen Nachweis einer Pilzvergiftung mit Hilfe der Sporenanalyse aus Pilzgerichten, Mageninhalt und Stuhl schnell und sicher zu führen.

Wir untersuchten bei mehreren Vergiftungen Erbrochenes und Stuhl mikroskopisch auf Pilzsporen - wie bisher üblich - durch einfache Objektträgerausstriche. In den Präparaten fanden sich nur vereinzelt Pilzsporen, die zudem durch die störenden Begleitmaterialien schlecht zu erkennen waren. Um die Sporen aller eingenommenen Pilze nachzuweisen, waren zeitraubende Untersuchungen vieler Ausstriche nötig.

Deshalb wurde ein geeigneteres Verfahren angestrebt, das es gestattet, in wenigen Präparaten eine intensive, saubere und schnelle Anreicherung und einen Querschnitt aller in den Ausgangsmaterialien befindlichen Pilzsporen zu erzielen.

Außerdem wollten wir Kenntnisse über die Widerstandsfähigkeit der Pilzsporen, bzw. über etwaige Veränderungen derselben durch die Zubereitung oder die Einwirkung des menschlichen Verdauungstraktes erhalten.

Nach der Anführung von Voruntersuchungen mit wässrigen Pilzhomogenisaten (S.108-109), die uns erste Kenntnisse über die morphologischen Eigenschaften der Pilzsporen sowie ihr spezifisches Gewicht vermitteln sollten, beschrieben wir die Entwicklung eines Verfahrens, Pilzsporen an der Oberfläche einer Flüssigkeit anzureichern (S.109-113). Hierbei machten wir uns die Erfahrungen FÜLLEBORNS bei der Wurmeieranreicherung aus Stuhl zunutze.

Unsere Methode beruht auf dem Prinzip, daß Pilzsporen auf Grund ihres geringen spezifischen Gewichtes in einem Medium mit hoher Dichte nach oben steigen (s.S.107).

Als geeignetstes Lösungsmittel zeigte sich Glycerin (s.S.112). Eine erhebliche Beschleunigung der Anreicherung erzielten wir durch Zentrifugieren (s.S.113), sodaß die Durchführung des gesamten Verfahrens etwa 30 Minuten in Anspruch nahm.

Der Sporennachweis nach Anreicherung (S.114-116) erfolgte durch die mikroskopische Betrachtung der abgehobenen obersten Flüssigkeitsschicht auf einem Objektträger ungefärbt oder nach vorausgegangener Fixierung und Färbung der Pilzsporen. Selbst durch drastische Hitzeeinwirkung und Färbemethode wurde die Form der Sporen wenig verändert.

Bei der anschließend dargelegten Prüfung des Anreicherungsverfahrens am homogenisierten Pilzmaterial, Pilzgericht und Stuhl (S.117-127) fanden sich kurz zusammengefaßt folgende Ergebnisse (genauere Einzelheiten sind den entsprechenden Kapiteln S.119, 120-121, 124-127 zu entnehmen):

Abhängigkeit der Anreicherung vom Reifezustand der verwendeten Pilze;

eine im Mittel etwa 10-fache Anreicherung der Pilzsporen aus Pilzgericht und Stuhl gegenüber den einfachen Ausstrichen;

Reinigung der Präparate durch weitgehende Abtrennung von Begleitmaterialien;

ein Querschnitt durch alle eingenommenen Sporen in einem Präparat;

keine Veränderungen der Pilzsporen durch Kochen oder die menschliche Verdauung;

lange Verweildauer der Pilzsporen im Magen- Darmtrakt.

Das Anreicherungsverfahren wurde bei drei Vergiftungsfällen angewandt. Hierbei gelang in allen Fällen der Nachweis von Sporen giftiger Pilze, nämlich zweimal *Amanita phalloides* sive *virosa* und einmal *Amanita mappa* Batsch, in den zur Untersuchung gelangenden Asservaten Pilzgericht, Magen- Darminhalt und Stuhl (s.S.128-137).

Bei der Sporenanalyse ergaben sich jedoch folgende Einschränkungen:

Da die Ähnlichkeit ihrer morphologischen Eigenschaften sichere Aussagen verhindert, lassen sich auf Grund ihrer Sporen nicht unterscheiden: die verschiedenen Knollenblätterpilzarten (der sehr giftige grüne, weiße und Frühlingsknollenblätterpilz vom harmloseren Mappa-Knollenblätterpilz und ungiftigen porphyrbraunen Wulstling), Panther- bzw. Fliegenpilz, viele Boletusarten (Rotkappe, Birkenpilz, Semmelpilz, Hexenpilz, Blaustiel, Sandpilz, Ziegenlippe, Satanspilz u.a.) mit Ausnahme der Steinpilze.

Unter Zuhilfenahme der Vorgeschichte konnte aber in zwei Fällen die Vermutungsdiagnose "Knollenblätterpilzvergiftung" bestätigt, im dritten Fall eine "Pantherpilzvergiftung" ausgeschlossen werden.

Abschließend zusammengefaßt führte die Prüfung unseres Anreicherungsverfahrens sowie vor allem seine Anwendung bei Vergiftungsfällen zu dem Ergebnis:

Mit Hilfe des relativ einfachen und rasch ausgeführten Verfahrens gelingt durch etwa 10-fache Anreicherung der Nachweis von Pilzsporen aus den zur Untersuchung gelangenden Asservaten meist auch dann noch, wenn in einfachen Objektträgerausstrichen keine Sporen mehr gefunden werden. Man erhält in wenigen Präparaten einen Querschnitt durch die Sporen aller eingenommenen Pilzarten. Die Sporen erweisen sich als sehr widerstandsfähig und können auf Grund ihrer langen Verweildauer im menschlichen Verdauungstrakt über einen größeren Zeitraum nachgewiesen werden. So ist es möglich, die Frage, ob Pilze gegessen wurden zu bejahen oder zu verneinen.

Eine Identifizierung der nachgewiesenen Pilzsporen wird durch die weitgehende Reinigung der Präparate erleichtert. Sie ist dem einigermaßen geübten Untersucher, eventuell unter Hinzuziehung von Sporenatlas und Vergleichspräparaten gut möglich. Allerdings scheitert eine genaue Differenzierung mancher Pilzfamilien, denen giftige und ungiftige Arten angehören, durch die Sporenanalyse auf Grund der geringen morphologischen Unterschiede ihrer Sporen. Über weitere Verwechslungsmöglichkeiten kann noch nichts gesagt werden, da vergleichende Untersuchungen über Pilzsporen bisher nicht vorliegen.

Zur endgültigen Beurteilung der Art der Pilzvergiftung wird neben dem Sporennachweis immer das klinische Bild hinzugezogen werden müssen.

E. Literaturverzeichnis

1. ABEL, J.J. and FORD, W.W.
On the poisons of *Amanita phalloides*.
J. biol. Chem. 2, 273-288 (1907)
2. ABUL-HAY, S.K., EWALD, R.A. and KAZYAK, L.
Fatal Mushroom Poisoning.
Report of a Case Confirmed by Toxicologic Analysis.
New Engl. J. of Med. 269, 223-227 (1963)
3. ALDER, A.E.
Die Pilzvergiftungen in der Schweiz während 40 Jahren.
Schweiz. Zschr. f. Pilzkunde 38, 65-73 (1960)
4. ALDER, A.E.
Erkennung und Behandlung der Pilzvergiftungen.
Dtsch. med. Wschr. 86, 1121-1127 (1961)
5. ARMBRUST, K. und LEONHARD, W.
Zur Kenntnis der Pantherpilzvergiftung.
Med. Klinik 44, 836-838 (1949)
6. ATKINSON, G.F.
Mushrooms.
New York (1911)
7. BERINGER, K.
Der Meskalinrausch.(= Monographien aus dem Gesamtgebiet
der Neurologie und Psychiatrie 49)
Berlin (1927)
8. BERNHARD-KREIS, E.
Über vier Fälle von Vergiftungen mit Knollenblätterschwamm.
Schweiz. med. Wschr. 67, 1192-1196 (1937)
9. BERNSTEIN, R.
Lorchel (Morchel) - Vergiftung.
Fühners Sammlung v. Vergiftungsfällen 1, 117-118 (1930)

10. BERTRAND, G. et SILBERSTEIN, L.
Sur la teneur des champignons en manganèse.
C. rend. Acad. sc. 242, 37-40 (1956)
11. BINDER, E.
Die Pilzvergiftungen und ihre Behandlung.
Österr. Apotheker-Ztg. 10, 491 (1956)
12. BINET, L. et MAREK, J.
Les troubles du métabolisme hydrocarboné dans l'intoxication
par les champignons. (Amanite phal.)
C. R. Soc. Biol. 124, 13-14 (1937)
13. BINET, L., KRACHOREC, J., LEBLANC, M. et QUIRY, D.
Nouvelles recherches sur l'intoxication par L'amanite phalloïde
Presse méd. 64, 1453-1464 (1956)
14. BIRCH, C.A.
Practitioner 157, 135 (1946)
(Zit. TYLER Jr. 1963)
15. BIRKFELD, A.
Pilze in der Heilkunde.
Wittenberg (1954)
16. BISCHOFF, S.
3 Fälle von Pilzvergiftung.
Dtsch. Militärarzt 7, 546-548 (1942)
17. BLANK, G.
Knollenblätterschwammvergiftung.
Münch. Med. Wschr. 67, 1023 (1920)
18. BLOCK, S.S., STEPHENS, R.L., BARRETO, A. and MURILL, W.A.
Chemical Identification of the Amanita Toxin in Mushrooms.
Science 121, 505-506 (1955)

19. BOCK, H. E., NIETH, H., ZYSNO, E., GAYER, J. und FRÖHLICH, CH. (1)
Die Knollenblätterschwammvergiftung.
(Symptomatologie, Klinik, Therapie)
Dtsch. Med. Wschr. 89, 1617-1622 (1964)
20. BOCK, H.E., ALY, F.W., EGGSTEIN, M., GEROK, W., KAUFFMANN, W., SCHEURLEIN, G. und WALLER, H.D. (2)
Biochemische Befunde an Kranken mit Pilzvergiftung.
Klin. Wschr. 42, 1039-1052 (1964)
21. BOEHM, R. und KÜLZ, E.
Über den giftigen Bestandteil der essbaren Morchel
(*Helvella esculenta*).
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 19, 403-414 (1885)
22. BOSTROEM, E.
Über die Intoxikationen durch die eßbare Lorchel.
Dtsch. Arch. f. klin. Medicin 32, 209 (1883)
23. BOTH, B.
Tödliche Vergiftung mit *Lepiota Bresadola*.
Fühners Sammlung v. Vergiftungsfällen 2, 43-46 (1938)
24. BOUCHILLOUX, S., MC MAHILL, P. and MASON, H.S.
The multiple forms of mushroom tyrosinase.
Purification and molecular properties of the enzymes.
J. Biol. Chem. 238, 1699-1707 (1962)
25. BOUDIER, E. und HUSEMANN, Th.
Die Pilze in ökonomischer, chemischer und toxikologischer
Hinsicht.
Berlin (1867)
26. BÖTTICHER, W.
Pilzverwertung und Pilzkonservierung.
München (1950)
27. BÖTTICHER, W.
Unsere Giftpilze.
Verbraucherdienst, Ausg. B, 8, 224 (1963)

28. BRAUCH, F.
Pantherpilzvergiftung.
Dtsch. Med. Wschr. 75, 152-153 (1950)
29. BRIEGER, L.
Über Ptomaine.
Berlin (1885) S. 48
30. BROWN, J.K., MALONE, M.H., STUNTZ, D. and TYLER Jr., V.E.
Paper chromatographic determination of muscarine in
Inocybe species.
J. Pharm. Sci. 51, 853-856 (1962)
31. BSCHOR, F. und MALLACH, J.J.
Vergiftungen durch den Kahlen Krempling (*Paxillus involutus*),
eine genießbare Pilzart.
Arch. f. Toxikologie 20, 82-95 (1963)
32. BUCK, R.W.
Toxicity of *Amanita muscaria*.
J. A. M. A. 185, 663-664 (1963)
33. BÜCHNER, F.
Spezielle Pathologie
München - Berlin (1955) S. 267-268
34. CANFORA, A.
La ricerca delle spore nell'avvelenamento da funghi.
Minerva medico-legale 82, 326-328 (1962)
35. CANN, H.M. and VERHULST, H.L.
Mushroom poisoning.
Am. J. Dis. Child. 101, 128-131 (1961)
36. CLUVELAND de, H. und E.
Pilze, gepulvert als clistier und pillulen.
Med. Mitteilungen 26, 3, 22-27 (1965)
37. CORRODI, H., HARDEGGER, E., KÖGL, F. und ZELLER, P.
Synthese von Stereoisomeren des Muscarins.
Experientia 13, 138-139 (1957)

38. COVA, N.
Hypoglycémie et inhibition de l'insulinase hépatique
par l'amanite phalloïde (Fries).
C. R. Soc. Biol. 150, 1720-1721 (1956)
39. DITTRICH, G.
Ber. dtsch. bot. Ges. 34, 719 (1916)
Ber. dtsch. bot. Ges. 36, 456 (1918)
(Zit. NEUHANN, WASICKY)
40. DONALIES, G. und VOLZ, G.
Ein Selbstmordversuch mit Fliegenpilz.
Der Nervenarzt 31, 182-185 (1960)
41. DONATELLI, L.
Therapeutikon (Pisa) 7, 1 (1947)
(Zit. HERBICH)
42. DUBASH, J. and TEARE, D.
Poisoning by Amanita phalloides.
Brit. Med. J. 1, 45-47 (1946)
43. DUJARRIC de la RIVIÈRE, R.
Etude physiologique d'un extracte d'amanite phalloïde.
Thèse Paris (1929)
44. EDMUNDOWICZ, J.M.
Mannitol dehydrogenase from Agaricus campestris.
J. Biol. Chem. 238, 3539-3541 (1963)
45. ELLIOT, W., HALL, M., KERR, D.N.S., ROLLAND, C.F., SMART, G.A.
and SWINNEY, J.
Mushroom poisoning.
Lancet 281, 630-633 (1961/II)
46. ERBEN, F.
Handbuch der ärztlichen Sachverständigentätigkeit. II,1.
Vergiftungen. Klin. Teil II.
Wien - Leipzig (1910) S. 709-732

47. EUGSTER, C.H. und WASER, P.G.
Zur Kenntnis des Muscarins.
Experientia 10, 298-300 (1954)
48. EUGSTER, C.H.
Isolierung von Muscarin aus *Inocybe Patouillardii* (Bres.).
Helv. chim. Acta 40, 886-887 (1957)
49. EUGSTER, C.H.
Rev. Mycol. 24, 369 (1959)
(Zit. TYLER Jr. 1963)
50. FABING, H.D. und HAWKINS, J.R.
Hallucinogene Wirkung des injizierten Bufotenins.
Science 123, 883 (1956). Berichtet in:
Angewandte Chemie 68, 530 (1956)
51. FAHRIG, G.
Über die Vergiftung durch Pilze aus der Gattung *Inocybe*
(Rißpilze und Faserköpfe).
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 88, 227-245 (1920)
52. FAUST, E.
Pilzgifte. In:
HEUBNER-HEFTERS *Handbuch der experimentellen Pharmakologie II*
Berlin (1924) S. 1677-1734
53. FAZEKAS, L. und JACOBOWITS, A.
Tödliche Pilzvergiftung (*Amanita phalloides*) bei einem Kind.
Arch. f. Toxikologie 16, 143 (1956)
54. FIEGEL, G. und KELLING, H.W.
Kortikoide und Vergiftungen.
Therapie der Gegenwart 98, 539-542 (1959)
55. FORD, W.W.
The toxins and antitoxins of poisonous mushrooms
(*Amanita phalloides*).
J. infect. dis. 3, 191 (1906)

56. FORD, W.W.
On the presence of hemolytic substances in edible fungi.
J. infect. dis. 4, 434 (1907)
57. FORD, W.W. and SHERRIK
On the properties of several species of the Polypocaceae
and of a new variety of Clitocybe, Clitocybe dealbata
suderifica Peck.
J. Pharm. and exp. Ther. 2, 549-558 (1911)
58. FORD, W.W.
Plant poisons and their antibodies.
Zbl. Bakt. I. Ref. 58, 129-162, 193-222 (1913)
59. FORD, W.W.
A new classification of mycetismus (mushroom poisoning).
J. Pharm. and exp. Ther. 29, 305-309 (1926)
60. FRAENKEL, E.
Über Knollenblätterschwammvergiftung.
Münch. med. Wschr. 67, 1193 (1920)
61. FRAGNER, P.
A new antibacterial substance from Inoloma traganum (Inolomin).
Experientia 5, 167 (1949)
62. FRIEDBERGER, E. und BROSSA, G.A.
Über die Wirkung von Pilzextrakten.
Z. Immunitätsforschung 15, 506-517 (1912)
63. FROBOESE, C.
Zur Pathologie der tödlichen Pilzvergiftung.
Ärzt. Wschr. 29, 449-454 (1947)
64. FURTER, H.
Synthese von (-)-Muscarin aus 2-Desoxy-D-Ribose.
Diss. ETH Zürich (1958)
65. FÜHNER, H.
Die quantitative Bestimmung des synthetischen Muskarins
auf physiologischem Wege.
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 52, 179-185 (1908)

66. FÜHNER, H.
Der Nachweis von Muskarin. In:
ABDERHALDEN, E.: Handbuch der biol. Arbeitsmethoden IV, 7A
Berlin - Wien (1935) S. 565-571
67. FÜHNER, H. und ROSENOW, E.
Über das Verhalten des synthetischen Muskarins im Tierkörper.
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 61, 283-296 (1909)
68. FÜLLEBORN
(Zit. HALLMANN)
69. GADAMER, J.
Lehrbuch der chemischen Toxikologie.
Göttingen (1909) S. 453-454
70. GALTIER
Traité de Toxikologie 2, 572
(Zit. ERBEN)
71. GASSNER, G.
Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und
Genußmittel.
Stuttgart (1955) S. 357-364
72. GAULTIER, M., FOURNIER, E. et GERVAIS, P.
Traitement des Intoxications par les Champignons.
Bull. Méd. Légale et Toxicologie Méd. 8, 139-149 (1965)
73. GÄUMANN, E.
Rauschzustände nach Pilzgenuß.
Experientia 15, 363-364 (1959)
74. GÄUMANN, E.
Die Pilze.
Basel (1964)
75. GEROK, W.
Untersuchungen zum Aminosäurenstoffwechsel bei Leberkranken.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 1962
(Zit. BOCK (2))

76. GERNER, O.
Die Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa.
Heidelberg (1953)
77. GLAS, A.
Praktisches Handbuch der Lebensmittel.
München - Basel - Wien (1965) S. 210-211
78. GOLDMANN, H.
Über Vergiftungen mit dem Giftpilze *Agaricus torminosus*.
Wien. klin. Wschr. 14, 279-281 (1901)
79. GRABENER, E.
Ungewöhnliche Ursache einer Knollenblätterpilzvergiftung.
Ärztl. Wschr. 14, 368-369 (1959)
80. GRAMBERG, E.
Die Pilze unserer Heimat.
Leipzig (1913 und 1939)
81. GRAVES, R.
Steps. London (1958)
(Zit. BUCK; HORNE and Mc CLUSKIE)
82. GRÄFF, S.
Knollenblätterschwamm (extrakt)-vergiftung beim Tier.
Zentralbl. f. allg. Path. u. path. Anatomie 40, 38 (1927)
83. GRUNER, P. und PETZEL, H.
Zur Therapie der Knollenblätterschwammvergiftung.
Med. Klinik 53, 1300-1302 (1958)
84. GRZYMALA, S.
Vergiftungen durch *Paxillus involutus* (Batsch) Fr.
Zschr. f. Pilzkunde, N.F. 24, 19 (1958)
85. GRZYMALA, S.
Zur toxischen Wirkung des orangefuchsigigen Hautkopfes.
(*Dermocybe orellana* Fr.).
Dtsch. Zschr. f. gerichtl. Med. 49, 91-99 (1959)

86. GUTZEIT, R.
Lorchel (Morchel) Vergiftung.
Fühners Sammlung v. Vergiftungsfällen 1, 119-120 (1930)
87. HABERDA, siehe
HOFMANN, E.R.v. und HABERDA, A.
Lehrbuch der gerichtlichen Medizin.
Berlin - Wien (1927) S. 867
88. HABERSAAT, E.
Mein Pilzbuch.
Bern (1959) (=Hallwag-Taschenbücher 10/11)
89. HALLERMAYER, R.
Über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes.
Diss. München (1940)
90. HALLMANN, L.
Klinische Chemie und Mikroskopie.
Stuttgart (1966) S. 117-119, S. 34
91. HANSER, R.
Pilzvergiftungen. In:
HENKE, F. und LUBARSCH, O.
Handbuch der spez. pathologischen Anatomie und Histologie. V/V
Berlin (1930) S.222-224
92. HARDEGGER, E. und LOHSE, F.
Über Muscarin.(7.Mitt.)Synthese und absolute Konfiguration
des Muscarins.
Helv. chim. Acta 40, 2383-2389 (1957)
93. HAUSCHILD, F.
Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie.
Leipzig (1961) S. 520
94. HEGGLIN, R.
Klinik der energetisch-dynamischen Herzinsuffizienz.
Basel (1947)
95. HEGI, A.
Über Pilzvergiftungen.
Dtsch. Arch. f. klin. Med. 65, 385 (1900)

96. HEIM, R.
Le Genre *Inocybe*.
Encyclopédie Mycologique, Vol. 1
Paris (1931)
97. HEIM, R.
Les substances indoliques produites par les champignons
toxiques et hallucinogènes.
Bull. Méd. Légale et Toxicologie Méd. 8, 122-139 (1965)
98. HELBIG, H.
Beitrag zur Psychopathologie der Knollenblätterpilzver-
giftung (*Amanita phalloides*).
Nervenarzt 27, 219-222 (1965)
99. HENNIG
s. MICHAEL-HENNIG
100. HERBICH, J., LOHWAG, K. und ROTTER, R.
Tödliche Vergiftung mit dem grünblättrigen Schwefelkopf.
Arch. f. Toxikologie 21, 310-320 (1966)
101. HESS, B.
Über die Hemmung der oxydativen Phosphorylierung durch
Phalloidin auf der Cytochrom-Stufe.
Biochem. Zschr. 328, 325-327 (1956)
102. HINRICHS, A.
Zur Klinik der Lorchelvergiftung.
Dtsch. Med. Wschr. 57a, 444-445 (1931)
103. HOFMANN, A., HEIM, R., BRACK, A. und KOBEL, H.
Psilocybin, ein psychotroper Wirkstoff aus dem mexika-
nischen Rauschpilz *Psilocybe mexicana* Heim.
Experientia 14, 107-109 (1958)
104. HOHENESTER, A.
Häufige Verwechslungsfälle bei Pilzen.
Visum Nr. 4, 105-112 (1964)
Sporennachweis in der Diagnose von Pilzvergiftungen.
Visum Nr. 4, 122-124 (1964)

105. HOMANN, G.
Pilzvergiftungen.
Die Therapiewoche 13, 369-373 (1963)
106. HORATIUS FLACCUS, Q.
Sermones et Epistulae - Satiren und Briefe,
eingeleitet und übersetzt von Rudolf Helm.
Zürich - Stuttgart (1962)
(Zur Zitierweise: II, IV, 20 = Liber II, Sermon.IV, Zeile 20)
107. HORNE, C.H.W. and Mc CLUSKIE, J.A.W.
The Food of the Gods.
Scot. Med. J. 8, 489-491 (1963)
108. HUSEMANN, siehe
BOUDIER und HUSEMANN
109. HYMANN, A.S.
Heart in mushroom poisoning.
Johns Hopkins Hosp. 42, 8-19 (1928)
110. INOKO, Y.
Über die giftigen Bestandteile und Wirkungen
des japanischen Pantherschwammes.
Mitt. der Univ. Tokio 1, 313 (1889)
ref. Centralblatt f. klin. Medizin 13, 463-464 (1892)
s.a. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 27, 297-300 (1890)
111. JAGIQ, N.v. und LIPINER, J.
Zur Symptomatologie der Pilzvergiftungen.
Wien. klin. Wschr. 31, 1029-1032 (1918)
112. JAROSCH, K. und STITZ, F.
Der Nachweis einer Pilzvergiftung.
Kriminalistik 13, 205-206 (1959)
113. JUVENALIS JUNIUS, D.
Satirarum Libri Quinque accedit Sulpiciae Satira
edidit C.F. Hermann.
Leipzig (1914)
(Zur Zitierweise: V, 147 = Satire V, Zeile 147)

114. KARLSON, P.
Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Stuttgart (1961)
115. KÄMPF, W.
Lorchelvergiftung (*Helvella esculenta*).
Ein Beitrag zum Nachweis des Giftes im Darminhalt.
Arch. f. Toxikologie 15, 17-20 (1954)
116. KELLER, H.
Vorhofflattern nach Pilzvergiftung (*Amanita pantherina*).
Arch. f. Toxikologie 14, 325-328 (1953)
117. KISTLER, H.J. und SCHMID, M.
Symptome und Therapie der Pilzvergiftungen.
Schweiz. Med. Wschr. 93, 1420-1422 (1963)
118. KLAR, H.
Giftpilze und Pilzvergiftungen.
Therapie des Monats 2, 283-292 (1959)
119. KLOR, G.
Über Pilzvergiftungen und ihre Therapie.
Dtsch. Med. Wschr. 65, 916-918 (1939)
120. KOBERT, K.
Lehrbuch der Intoxikationen. Bd. I.
Stuttgart (1893) S. 161-162
121. KOCHMANN, N.
Lorchel-Vergiftung.
Fühners Sammlung v. Vergiftungsfällen 2, 149-150 (1931)
122. KOLOKOLTSEV, E.F., EGORCHKIN, A.N. und IKARKOV, Vv.
Application of molecular spectral analyses for
identification of some fungi.
Sudebno medicinskaja ekspertiza (Moskau) 4, 35-38 (1961)
123. KOWALSKI, J.M.
The killer mushroom.
Illinois Med. J. 122, 255-258 (1962)

124. KÜGL, F. und ERXLIEBEN, H.
Untersuchungen über Pilzfarbstoffe VIII:
über den roten Farbstoff des Fliegenpilzes.
Liebigs Ann. d. Chemie 479, 11-26 (1930)
125. KÜGL, F., DUISBERG, H. und ERXLIEBEN, H.
Untersuchungen über Pilzgifte I:
über das Muscarin. I.
Liebigs Ann. d. Chemie 489, 156-192 (1931)
126. KÜGL, F., FOX, H.C. und SALEMINK, C.A.
Muscarin, Synthese eines Gemisches von Muscarin und
seinen stereoisomeren Formen.
Experientia 13, 137-138 (1957)
127. KRASCHENINIKOFF
History of Kamtschatka and the Kurilsky Islands.
Gloucester (1764)
(Zit. LEWIN 1924)
128. KRAUSE, W.W.
Zur Klinik der Knollenblätterschwammvergiftung.
Med. Klinik 42, 458-459 (1947)
129. KROMBOLZ, J.V.
Naturgetreue Abbildungen und Beschreibungen der
eßbaren, schädlichen und verdächtigen Schwämme.
Prag (1831)
130. KRÜPE, M.
Blutgruppenspezifische pflanzliche Eiweißkörper.
(Phyttagglutinine).
Stuttgart (1956) S. 13-16
131. LANDE, K.
Lorchelvergiftung und Leberschädigung.
Münch. Med. Wschr. 77, 1615-1617 (1930)
132. LANGSDORFF
(Zit. SCHMIEDEBERG und KOPPE u.a.)

133. LAUX, F.J.
Knollenblätterschwammvergiftung.
Fühners Sammlung v. Vergiftungsfällen 1, 121-122 (1930)
134. Le BRETON, R.
Est-il toujours possible d'établir la preuve de
l'intoxication par les Amanites à partir des viscères?
Bull. Méd. Légale et Toxicologie Méd. 8, 149-153 (1965)
135. LEHMANN, L.
Zur Klinik und Spätprognose der Vergiftung mit
Amanita phalloides.
Helv. Med. Acta 30, 30-46 (1963)
136. LENDLE, L.
Vergiftungen durch den russischen Fliegenpilz,
Perlpilz oder Pantherpilz.
Fühners Sammlung v. Vergiftungsfällen 12, 101-104 (1942/43)
137. LEONAHARD, W.
Über Rauschzustände bei Pantherpilzvergiftung.
Der Nervenarzt 20, 181-188 (1949)
138. LESCHKE, E.
Die wichtigsten Vergiftungen.
München (1933) S. 263 und 266
139. LEWIN, L.
Die Gifte in der Weltgeschichte.
Berlin (1920)
140. LEWIN, L.
Phantastica: Die betäubenden und erregenden Genußmittel.
Berlin (1924) S. 118-124
141. LIMOUSIN, H.
Le traitement de l'intoxication par les champignons vénéneux.
Sem. Hôp. Paris 11, 827-829 (1959)
142. LINDAU, G.
Die höheren Pilze. Basidiomyceten.
Berlin (1928)

143. LISSITZKY, S. and ROLLAND, M.
Oxydation of tyrosine and tyrosine-containing peptides
or proteins by mushroom polyphenoloxylase.
II. Mechanism of the oxydation of tyrosine residues of proteins.
Biochim., Biophys. Acta 56, 95-110 (1962)
III. Properties of oxydized proteins and certain DOPA proteins.
Biochim., Biophys. Acta 65, 481-494 (1962)
144. LIST, P.H.
Basische Inhaltsstoffe, II.
Biogene Amine und Aminosäuren des Schoppftintlings,
Coprinus comatus Gray.
Arch. Pharm. 291/63, 502-513 (1958)
145. LIST, P.H. und REITH, H.
Die basischen Inhaltsstoffe der Pilze, X.
Imidazolderivate in Coprinus atramentarius Bull.
Hoppe Seylers Zschr. f. phys. Chemie 319, 17-21 (1960)
146. LIST, P.H. und REITH, H.
Coprinus atramentarius Bull. und seine Tetraäthyl-disulfiram-
ähnliche Wirkung.
Arzneimittelforschung 10, 34-40 (1960)
147. LOCHTE, Th.
Der botanische Nachweis von Pilzvergiftungen. In:
Gerichtsärztliche und polizeiärztliche Technik.
Wiesbaden (1914) S. 671-673
148. LOHMANN, W.
Beitrag zur Klinik der Fliegen- und Pantherpilzvergiftungen.
Ärztl. Wschr. 1/2, 937-940 (1946/47)
149. LUCAS, E.H., RINGLER, R.L. and BYERRUM, R.U.
Tumorinhibitors in Boletus edulis and other Holobasidiomycetes.
Antibiotics 2, 1-4 (1957)
150. LUDWIG, H.
Einige Vergiftungsfälle aus der täglichen Spitalpraxis.
Schweiz. Med. Wschr. 92, 1222-1224 (1962)

151. LYNEN, F. und WIELAND, U.
Über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes IV.
Liebigs Ann. d. Chemie 533, 93-117 (1937) (=Diss. München 1937)
152. LYON, E.
Zur Kenntnis der Sektionsbefunde bei Pilzvergiftungen.
Med. Klinik 12, 237-239; 262-265 (1916)
153. MALENÇON, G.
La série des Asterospores.
Recueil de Trav. Crypt. dédiés à Louis Mangin, 377-396 (1931)
154. MANGEL, K.
Über ein gehäuftes Auftreten von Fliegen- und Pantherpilz-
vergiftungen.
Ärztl. Wschr. 4, 375 (1949)
155. MANNES, K.
Über die Verwendung von Ionenaustauschern bei der Isolierung
der giftigen Inhaltsstoffe des grünen Knollenblätterpilzes.
Diplomarbeit Frankfurt/Main (1956)
156. MARCOVITZ, E. and ALPERS, B.J.
The central nervous system in mushroom poisoning.
Arch. Neurol. Psychiat. 32, 53-71 (1935)
157. MARTIALIS VALERIUS, M.
Epigrammaton Libri, edidit Ludwig Friedländer
Leipzig (1886)
(Zur Zitierweise: z.B. III, 60 = Liber III, Epigrammaton 60)
158. MATSCHINSKY, F.
Tierexperimentelle und elektrophoretische Untersuchungen
zur Serumtherapie bei der Knollenblätterpilzvergiftung.
Klin. Wschr. 40, 158-160 (1962)
159. MATSCHINSKY, F. und WIELAND, O.
Über Serumveränderungen und Störungen der Mitochondrien-
funktion bei experimenteller Phalloidinvergiftung.
Biochem. Zschr. 333, 33-47 (1960)

160. MATSCHINSKY, F., MEYER, U. und WIELAND, O.
Die Wirkung des Knollenblätterpilzgiftes Phalloidin
auf die isolierte Rattenleber.
Biochem. Zschr. 333, 48-61 (1960)
161. MECKE, W.
Muscarinvergiftung durch den ziegelroten Rißpilz
(*Inocybe lateraria* Ricken).
Fühners Sammlung v. Vergiftungsfällen 5, 89-90 (1934)
162. MERLEVEDE, E.
Over Stoffen met Antabus-Achtige Werking.
Verh. kon. Vlaam. Acad. Geneesk. van België 25, 59-78 (1963)
163. MEUSEL, W. und ORZECOWSKI, G.
Über die Behandlung der Knollenblätterschwamm-Vergiftung
mit Cholin.
Ärztl. Wschr. 2, 961-963 (1947)
164. MEYTHALER, F. und EICHHORN, W.
Klinik der Pilzvergiftungen.
Ärztl. Forsch. 18, 393-396 (1964)
165. MICHAEL, E. und HENNIG, B.
Handbuch für Pilzfreunde.
Bd. I. und II, Jena (1958 - 1960)
166. MICHON, P., LARCAN, A., LAMARCHE, M., GRIGNON, G.,
VICARI, F. et HURIET, C.
Les nephropathies phalloidiennes.
Presse méd. 69, 1327-1330 (1961)
167. MOENCH, G.R.
Toxicity of various mushrooms.
J. A. M. A. 186, 1025 (1963)
168. MOESCHLIN, S.
Klinik und Therapie der Vergiftungen.
Stuttgart (1964) S. 630-650
169. MORTARA, M. und MARTINETTI, L.
Vergiftung durch *Hypholoma fasciculare* Fries (Schwefel-
kopf, Bitterschwamm).
Arch. f. Toxikologie 15, 390-391 (1954/55)

170. MÜLLER, H.
Über Inhaltsstoffe des ziegelroten Rißpilzes, *Inocybe Patouillardii* Bres.
Diss. Würzburg (1959) (Auszug)
171. MÜLLER, R.
Über die Ähnlichkeit des Sectionsbefundes bei Phosphor- und Fliegenschwammvergiftung.
Vierteljahresschr. f. gerichtl. Med. u. öffentl. Sanitätswesen 8, 66-75 (1890)
172. NAKAI, K.
Medicine and Biology 49, 129 (1958)
(Zit. NAKANISHI et al.)
173. NAKANISHI, K., TADA, M., YAMADA, Y., OHASHAI, M., KOMATSU, N. and TERAOKAWA, H.
Isolation of Lampterol, an Antitumor Substance from *Lampteromyces japonicus*.
Nature (London) 197, 292 (1963)
174. NARITA, D.
Vergiftungsfall durch *Nematoloma fasciculare*/Hypholoma fascicul..
Trans. mycol. Soc. jap. 2, 6 (1957)
175. NEUBURGER
Akute gelbe Leberatrophie durch Lorchelvergiftung.
Med. Klinik 26, 947-948 (1930)
176. NEUHANN, W.
Über Pilzvergiftungen.
Diss. München (1941)
177. OSAKI, S.
The mechanism of tyrosine oxydation by mushroom tyrosinase.
Arch. Biochem. 100, 378-384 (1963)
178. PACHNER, K.
Sind Papst Klemens VII. und Kaiser Karl VI. an den Folgen einer Pilzvergiftung gestorben?
Zschr. f. Pilzkunde 21 (A.F.), 16 (N.F.), 74-79 (1937)

179. PASTOR, L. v.
Geschichte der Päpste. Bd IV/2
Freiburg / Br. (1907) S. 540-542
180. PAULET, J.C.
Traité des Champignons.
Paris (1793)
181. PLINIUS SECUNDUS, C.
Naturalis Historiae, Libri XXXVII,
edidit C. Mayhoff
Leipzig (1892)
(Zur Zitierweise: z.B. XII, 50 = Liber XII, Satzzahl 50)
182. PRIBRAM, E. und ZACH, F.
Die wichtigsten Methoden beim Arbeiten mit Pilzen. In:
ABDERHALDEN, E., Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden.
Abt. XII / Teil 1, S. 466
Berlin - Wien (1925)
183. RAAB, H.A.
Beiträge zur Kenntnis des Giftstoffes der Knollenblätterpilze.
Hoppe-Seyler's Zschr. f. phys. Chemie 207, 157-181 (1932)
184. RABE, F.
Beiträge zur Toxikologie des Knollenblätterschwammes.
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 2, 352-364 (1911)
185. RADAIS, M. und SARTORY, R.
Sur l'immunisation du lapin contre le poison des Amanites
à phalline.
C. R. acad. sc. 151, 156-158 (1910)
186. RAMSBOTTOM, J.
Mushrooms and Toadstools.
London (1953)
187. RASZEJA, S.
Histologische Untersuchungen der Leber bei Pilzvergiftung
(Amanita phalloides).
Dtsch. Zschr. f. gerichtl. Med. 50, 417-422 (1960)

188. RASZEJA, S.
Eine neue Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblutspuren unter Anwendung eines artspezifischen Phyttagglutinationsinhibitors.
Z. Ärztl. Fortbild. 58, 14 (1964)
189. RASZEJA, S.
Differenzierung von Fragmenten giftiger und eßbarer Pilze auf Grund ihrer hämagglutinierenden und hämolytischen Eigenschaften.
Westfälische Pilzbriefe 2, 85-90 (1965)
190. RAUH, W.
Unsere Pilze.
Heidelberg (1951)
191. REIF, G.
Eine neuartige Reaktion der Lorchel.
Zschr. Unters. Lebens- und Genußmittel 69, 585-586 (1935)
192. REIF, G.
Reaktionen der Lorchel (II. Mitteilung).
Zschr. Unters. Lebens- und Genußmittel 71, 435-442 (1936)
193. REIF, G.
Reaktionen der Lorchel (III. Mitteilung).
Zschr. Unters. Lebens- und Genußmittel 76, 30-36 (1938)
- ~~194.~~ REITER, M. und BORCHERS, H.G.
Hypoplastische Anämie nach Knollenblätterpilzvergiftung.
Med. Klinik 43, 447-450 (1948)
195. REUTER
(Zit. MOESCHLIN, WASICKY)
196. RICHTER, M.
Gerichtsärztliche Diagnostik und Technik.
Leipzig (1905) S. 168-169

197. RICKEN, A.v.
Die Blätterpilze (Agariceae)
Leipzig (1915) S. II
198. ROCH, M.
Le traitement de l'empoisonnement par les champignons.
Schweiz. Med. Wschr. 66, 1025-1029 (1936)
199. ROLAND, J.F., CHMIELEWICZ, Z.F., WEINER, B.A. and GROSS, A.W.
Calvacin: a new antitumor agent.
Science 123, 1897 (1960)
200. SIMANDL, J. and FRANC, J.
Chem. Listy 50, 1862 (1956)
(Zit. TYLER Jr. 1963)
201. SMITH, J.L. and KRUEGER, R.C.
Separation and purification of the phenolase of the
common mushrooms.
J. Biol. Chem. 237, 1121-1128 (1962)
202. SCHLOSSBERGER, H. und MENK, W.
Zur Frage der Serumbehandlung von Knollenblätter-
schwammvergiftungen.
Klin. Wschr. 10, 1346-1350 (1931)
203. SCHMID, E., WÜST, H. und BRESSEL, D.
Pilzvergiftungen - Klinik und Therapie.
Visum Nr. 4, 98-104 (1964)
204. SCHMIEDEBERG, O. und KOPPE, R.
Das Muscarin. Das giftige Alkaloid des Fliegenpilzes.
Leipzig (1869)
205. SCHNYDER, K.
Hirnödem bei Pilzvergiftungen.
Vierteljahresschr. f. gerichtl. Med. 54, 211 (1917)
206. SCHORMÜLLER, J.
Lehrbuch der Lebensmittelchemie.
Berlin - Göttingen - Heidelberg (1961) S. 449-452

207. SCHÖFFLING, K. und GROSSER, H.
Die Pilzvergiftungen und ihre Behandlung.
(Ausgewählte Kasuistik auf Grund von 64 Beobachtungen
während der letzten 10 Jahre).
Münch. Med. Wschr. 27, 325-329; 352-353 (1955)
208. SCHÖMMER, F.
Kryptogamen - Praktikum.
Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung und Präparation
der blühenden Pflanzen für Studierende und Liebhaber.
Stuttgart (1949)
209. SCHRÖTER, J.
Bericht über Vergiftungen durch Pilze in Schlesien bis
zum Jahre 1880.
Breslauer ärztl. Zschr. 2, 149 (1883)
210. SCHURZ, J. (1)
Einheimische Giftpflanzen: Der ziegelrote Rißpilz.
Kosmos 60, 138 (1964)
211. SCHURZ, J. (2)
Einheimische Giftpflanzen: Der Fliegenpilz - das Männlein
im Walde.
Kosmos 60, 182 (1964)
212. SCHÜRER, J.
Kasuistischer Beitrag zur Kenntnis der Pilzvergiftungen.
Dtsch. Med. Wschr. 38, 548-551 (1912)
213. STAHR, H.
Über tödliche Lorchelvergiftungen.
Dtsch. Med. Wschr. 56, 1993-1995 (1930)
214. STARKENSTEIN, E., ROST, E. und POHL, J.
Lehrbuch der Toxikologie.
Berlin - Wien (1929)
215. STAUDE, F.
Die Schwämme Mitteldeutschlands, insbesondere des
Herzogtums Coburg.
Coburg (1857)

216. STEIDLE, H.
Beiträge zur Toxikologie der höheren Pilze I.
Lactarius torminosus (Birkenreizker, Giftreizker).
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 151, 232-252 (1930)
217. STEIDLE, H.
Beiträge zur Toxikologie der höheren Pilze II.
Vergleichende Untersuchungen von Hymenomyceten und
Gastromyceten.
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 159, 520-531 (1931)
218. STEIDLE, H.
Gifte in Speisepilzen.
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 167, 91-92 (1932)
219. STEINBRINCK, W. und MÜNCH, H.
Über Knollenblätterschwammvergiftung.
Zschr. f. klin. Med. 103, 108-146 (1926)
220. STERNBERG, S.S.
Toxicological studies of Calvacin.
Cancer RES 23, 1036-1044 (1962)
221. STRAUB, W.
Zur chemischen Kinetik der Muskarinwirkung und des
Antagonismus Muskarin - Atropin.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 119, 127 (1907)
222. STRAUSS, A.
Pilzvergiftungen 1946 in Berlin und Brandenburg.
Therapie d. Gegenwart 87, 110-113 (1948)
223. STUHLFAUTH, K. und JUNG, F.
Vergiftungen mit Lorcheln (Helvella esculenta).
Arch. f. Toxikologie 14, 86-92 (1952)
224. TARDIEU, CHEVALLIER et LASSAIGNE
Ann. d' Hyg. pub. 47, (1852)
(Zit. ERBEN)

225. TELEMANN
(Zit. HALLMANN)
226. TENNER, H.
Beitrag zur Klinik der Fliegenpilzvergiftung.
Münch. Med. Wschr. 84, 1767-1769 (1937II)
227. TREUPEL, G. und REHORN, E.
Über Knollenblätterschwammvergiftung.
Dtsch. Med. Wschr. 46, 509-511; 540-542 (1920)
228. TYLER Jr., V.E.
Poisonous Mushrooms. In:
Progress in Chemical toxicology, ed. by Stolmann, A.
Vol. 1, 339-384
New York - London (1963)
229. TYLER Jr., V.E., BENEDICT, R.G., BRADY, L.R. and ROBBERS, J.E.
Occurrence of Amanita Toxins in American Collections of
Deadly Amanitas.
J. Pharm. Sci. 55, 590-593 (1966)
230. UMBER
Akute gelbe Leberatrophy durch Lorchelvergiftung.
Med. Klinik 26/I, 947-949 (1930)
231. VERNE, J., CECCALDI, P.F. et HEBERT, S.
Action de l'amanite sur le rat à diabète alloxanique.
C. R. Soc. Biol. 144, 645-647 (1950)
232. VIOLA, S. e GOVA, N.
L'avvelenamento da funghi fallinici
(Amanita phall., Amanita verna, Amanita virosa).
Minerva med. Tor. 48, 3568-3574 (1957)
233. VOGT, M.
Pharmakologische Untersuchungen des kristallisierten
Giftes "Phalloidin" des Knollenblätterschwammes.
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 190, 406-416 (1938)

234. WALLER, H.D., KAUFMANN, W., GEROK, W. und EGGSTEIN, M.
Biochemische Befunde bei heterozygoten Glutathion-
reduktasemangelträgerinnen mit Pilzvergiftung.
Klin. Wschr. 42, 613-618 (1964)
235. WASER, P.G.
Fehlende ganglionäre (nikotinische) Wirkung des Muscarins.
Experientia 11, 452-453 (1955)
236. WASER, P.G.
Struktur und Wirkung des Muscarins, des Muscarons und
ihrer Stereoisomeren.
Experientia 14, 356-358 (1958)
237. WASICKY, R.
Giftige Pilze und die durch sie hervorgerufenen Vergiftungen.
Wien. klin. Wschr. 50a, 22 (1937)
238. WASILJKOW, B.P.
Die Vergiftungsfälle des Büscheligen Schwefelkopfes,
Hypholoma fasciculare (Fr.) Quel.
Schweiz. Zschr. f. Pilzkunde 41, 117-121 (1963)
239. WASSON, V.P. and R.G.
Mushrooms, Russia and History.
Vols. I and II
New York (1957)
240. WEINER, C.
Knollenblätterpilzvergiftung im Kindesalter.
Med. Klinik 42, 1880-1885 (1960)
241. WENDT
Über giftige Pilze und Pilzvergiftungen.
Vierteljahresschr. f. gerichtl. u. öffentl. Medizin 7,
99-143 (1855)
242. WICKI, B.
Bull. Soc. mycol. de Genève 2, 8 (1925)
(Zit. MOESCHLIN)

243. WIELAND, H. und HALLERMAYER, R.
Über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes VI.
(Amanitin, das Hauptgift des Knollenblätterpilzes).
Liebigs Ann. d. Chemie 548, 1-18 (1941)
244. WIELAND, O., FISCHER, H.E. und REITER, M.
Über den Wirkungsmechanismus des Knollenblätterpilzgiftes
 α -Amanitin.
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 215, 75-84 (1952)
245. WIELAND, Th., MOTZEL, W. und MERR, H.
Über das Vorkommen von Bufotenin im gelben Knollenblätterpilz.
Liebigs Ann. d. Chemie 581, 10-16 (1953)
246. WIELAND, Th. und DOSE, K.
Veränderungen der Proteinverteilung im Blutserum
bei der Amanitinvergiftung.
Biochem. Zschr. 325, 439-447 (1954)
247. WIELAND, Th. und DOSE, K.
Zur Biochemie der Knollenblätterpilz-Vergiftung.
Biochem. Zschr. 327, 345-353 (1956)
248. WIELAND, Th. und SCHÖN, W.
Über die Giftstoffe des grünen Knollenblätterpilzes X.
Die Konstitution des Phalloidins.
Liebigs Ann. d. Chemie 593, 157-178 (1955)
249. WIELAND, Th.
Die Giftstoffe des grünen Knollenblätterpilzes
(Amanita phalloides).
Angewandte Chemie 69, 44-50 (1957)
250. WIELAND, Th. und MANNES, K.
Über die Giftstoffe des grünen Knollenblätterpilzes XIII.
Phalloin, ein weiteres Toxin.
Angewandte Chemie 69, 389 (1957)

251. WIELAND, Th., MANNES, K. und SCHÖPF, A.
Über die Giftstoffe des grünen Knollenblätterpilzes XV.
Die Konstitution des Phalloins.
Liebigs Ann. d. Chemie 617, 152-162 (1958)
252. WIELAND, Th. and WIELAND, O.
Chemistry and Toxicology of the Toxins of *Amanita phalloides*.
Pharm. Reviews 11, 87-107 (1959)
253. WIELAND, Th. und BOEHRINGER, W.
Über die Giftstoffe des grünen Knollenblätterpilzes XIX.
Umwandlung von β -Amanitin in α -Amanitin.
Liebigs Ann. d. Chemie 635, 178-181 (1960)
254. WIELAND, Th.
Giftstoffe des grünen Knollenblätterpilzes (*Amanita phalloides*)
Helv. Chim. Acta 44, 919-926 (1961)
255. WIELAND, Th. und SCHNABEL, H.
Über die Giftstoffe des grünen Knollenblätterpilzes XXI.
Die Konstitution des Phallacidins.
Liebigs Ann. d. Chemie 657, 218-225 (1962)
256. WIER, J.K. and TYLER Jr., V.E.
An investigation of *Coprinus atramentarius* for the
presence of disulfiram.
J. Am. Pharm. Ass. Sci. 49, 426-429 (1960)
257. WÖLKART, N., SOOS, E. und RANKL, W.
Zur Klinik und Pathologie der Knollenblätterpilzvergiftung.
Wien. klin. Wschr. 66, 273-276 (1954)
258. WÜST, G. und ARNOLD, W.
Klinischer und toxikologischer Beitrag zur Panther-
pilzvergiftung.
Zschr. ges. innere Med. 10, 1170-1172 (1955)
259. YAFFEE, H.S.
Individual toxic reactions to mushrooms.
J. A. M. A. 188, 328 (1964)

260. ZEITLMAYR, L.

Knaurs Pilzbuch.

München (1955)

261. ZIEHL - NEELSEN

(Zit. HALLMANN)

Es wurde die Literatur bis zum Jahre 1966 berücksichtigt.

Zum Schluß der Arbeit erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig für die Überlassung des Themas und die stete Förderung bei der Durchführung der Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Sehr herzlich danken möchte ich Herrn Diplomchemiker G. Machbert für seine außergewöhnlich große Hilfsbereitschaft und den zu jeder Zeit so freundlich erteilten Rat.

Lebenslauf

Am 16. September 1939 wurde ich als Tochter des praktischen Arztes Adalbert Wiesmeier und seiner Ehefrau Irmengard, geb. Spiegel, in Eichstätt/Bay. geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Vlechtach und Zenting (Bay. Wald) war ich von 1951 bis zur Reifeprüfung im Juli 1958 Schülerin des Deutschen Gymnasiums in Eichstätt.

Das Medizinstudium begann ich im Wintersemester 1958/59 an der Universität Erlangen, wo ich im Oktober 1959 das Vorphysikum und im April 1961 das Physikum ablegte. Anschließend studierte ich zwei Semester in München. Im Oktober 1964 bestand ich das Medizinische Staatsexamen an der Universität Erlangen-Nürnberg.

Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich am Kreis-krankenhaus Dinkelsbühl, Bezirkskrankenhaus Erlangen, Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen-Nürnberg, Städtischen Krankenhaus Achern/Baden und zuletzt am Kreiskrankenhaus Plattling/Ndb. ab. Dort bin ich nach Erlangung meiner Approbation im November 1967 als Assistenzärztin an der internen Abteilung tätig.

Erlangen, im August 1968

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
